

**XX Encontro do Talento Estudantil da  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**

Resumos

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

**XX Encontro do Talento Estudantil da  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**

Resumos

*Zilda Maria de Araújo Ribeiro  
José Eustáquio Menezes  
Irene Martins  
João Batista Tavares da Silva*

Editores Técnicos

**Embrapa**  
*Brasília, DF*  
2015

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**

Parque Estação Biológica – PqEB

Av. W5 Norte (final)

CEP: 70770-917 Brasília, DF

Fone: (61) 3448-4700/(61) 3448-4739

[www.embrapa.br](http://www.embrapa.br)

<https://embrapa.br/fale-conosco/sac/>

**Unidade responsável pela edição**

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**Comitê Local de Publicações (CLP)**

Presidente

*Maria Isabela Lourenço Barbirato*

Secretário executivo

*Thales Lima Rocha*

Supervisão editorial: *Zilda Maria de Araujo  
Ribeiro*

Membros

Projeto gráfico: *Jose Cesamildo Cruz  
Magalhães*

*Rosamires Rocha Galvão*

*Daniela Aguiar de Souza*

*Lucas Macahdo de Souza*

*Márcio Martinelli Sanches*

*Ligia Sardinha Fortes*

Capa: Adilson Werneck

Suplentes

*João Batista Tavares da Silva*

*Ana Flávia do Nascimento Dias Côrtes*

**1ª edição**

CD-ROM (2015): 250 exemplares

As informações contidas nesta publicação são de exclusiva e de inteira responsabilidade dos autores, não exprimindo, necessariamente, o ponto de vista da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei Nº 9.610)

**Dados Internacionais da Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

E 53 Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (20 : 2015 : Brasília, DF).

XX Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: resumos. / Zilda Maria de Araújo Ribeiro, José Eustáquio Menezes, Irene Martins, editores técnicos. – Brasília, DF : Embrapa, 2015.

129 p. ; 1 CD-ROM

ISBN: 978-85-7035-563-8

1. Recursos genéticos. 2. Biotecnologia. 3. Controle biológico. I. Ribeiro, Zilda Maria de Araújo. II. Menezes, José Eustáquio. III. Martins, Irene. IV. Título. V. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

CDD 575.1

## **Editores Técnicos**

### **Zilda Maria de Araújo Ribeiro**

Bióloga, mestre em Fitopatologia, analista na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

### **José Eustáquio Menezes**

Engenheiro-agrônomo, mestre em Agronomia, pesquisador na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

### **Irene Martins**

Bióloga, mestre em Ciências Agrárias, analista na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

### **João Batista Tavares da Silva**

Biólogo, doutor em microbiologia, analista na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



## **COMISSÃO ORGANIZADORA**

Zilda Maria de Araújo Ribeiro – Coordenação  
Irene Martins  
José Eustáquio Menezes  
João Batista Tavares da Silva  
Lucas Machado de Souza  
Ingrid Vicente do Reis  
Rosângela Zansavio  
Adilson Amaral Werneck  
Francisco Régis Ferreira Lopes  
Maria Fernanda Diniz Avidos  
Irene Maria Guará Lobo Santana  
Maria das Dores Vale Medeiros  
Ana Flávia do Nascimento Dias  
Thales Lima Rocha  
Hervécia Fernanda F. de Oliveira

## **COMITÊ CIENTÍFICO**

João Batista Tavares da Silva – Coordenação  
Antonieta Nassif Salomão  
Diva Maria de Alencar Dusi  
Joseílde Oliveira Silva Werneck  
Marcos Rodrigues de Faria  
Maria Elita Batista de Castro  
Maurício Machaim  
Norton Polo Benito  
Solange Carvalho B. Roveri José  
Vânia Cristina Rennó Azevedo  
Vera Tavares de Campos Carneiro

## **COMISSÃO JULGADORA**

Afonso Celso Candeira Valois – Embrapa  
Cristina Arzabe - Embrapa Café  
Danilo Batista Pinho – Fitopatologia/UnB  
Everaldo Anastacio Pereira – Depto Agronomia UnB  
Fernando Souza Rocha – Embrapa Cerrados  
Iriani Rodrigues Maldonade – Embrapa Hortaliças  
Maria de Jesus Barbosa Cavalcante - Embrapa DPD  
Pacelli José Maracci Zahler – DSV



## **Apresentação**

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia realizou nos dias 25 e 26 de novembro de 2015 o XX Encontro do Talento Estudantil, evento que intensifica a interação entre pesquisadores, professores e estudantes das instituições de pesquisa e ensino no Distrito Federal.

O Encontro busca incentivar, aprimorar e valorizar a produção científica dos estudantes de graduação e de pós-graduação, que atuam na pesquisa de caracterização, conservação e biotecnologia de recursos genéticos animais, microbianos e vegetais. Também viabiliza a divulgação dos resultados de pesquisa por eles desenvolvidos sob a orientação das equipes das quais eles participam. Assim, a Embrapa tem contribuído com a formação acadêmica e científica brasileira, oferecendo aos estudantes chance de aprender e praticar o método científico e outros conhecimentos complementares, bem como de interação com pesquisadores com vasta experiência.

Neste XX Encontro, os 95 trabalhos inscritos foram avaliados por pesquisadores de unidades da Embrapa, Instituições Governamentais, bem como por professores da Universidade de Brasília, que fizeram parte da Comissão Julgadora. Os resumos dos trabalhos apresentados são publicados em anais do evento e disponibilizados no site da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Aqueles selecionados como destaques pela comissão julgadora foram homenageados e os estudantes premiados a título de reconhecimento e incentivo. Os seis trabalhos, primeiros lugares de cada categoria e de cada área de pesquisa foram também apresentados oralmente, no encerramento do Encontro.

Parabenizamos os participantes do XX Encontro do Talento Estudantil e agradecemos aos que vêm contribuindo para a realização do Encontro - empregados da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia pela orientação, apoio e incentivo aos estudantes e à Embrapa Sede. Agradecemos à Comissão Julgadora e às suas respectivas Instituições Universidades, faculdades e as instituições governamentais e de pesquisa, pela valiosa colaboração. Agradecemos também ao Centro Universitário de Brasília (UniCEUB), União Pioneira de Integração Social - Faculdade UPIS e à Federação das Associações dos Empregados da Embrapa-FAEE pelo apoio financeiro.

*JOSÉ MANUEL CABRAL DE SOUSA DIAS*  
Chefe-Geral  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



# SUMÁRIO

<u>Animais</u> .....	21
<u>ANÁLISE DE AMPLA ASSOCIAÇÃO DO GENOMA – GWAS: UMA APLICAÇÃO DE SELEÇÃO POR TORNEIOS</u> Saavedra, C.A.P.B.; Gomes, E.M.C.; Caetano, A.R.; Paiva, S.R.; Silva, J.P. ....	22
<u>ANÁLISE FAUNÍSTICA E FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE MOSCAS-DAS-FRUTAS (DIPTERA: TEPHRITIDAE) NO DISTRITO FEDERAL</u> Viana, J.P.C.; Barbosa, A.V.; Viana, M.C.; Lopes-da-Silva, M. ....	23
<u>ATAQUE DE <i>Hypsipyla grandella</i> ZELLER (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) EM CÁPSULAS DE CEDRO NO DISTRITO FEDERAL</u> Castro, M.T.; Montalvão, S.C.L.; Monnerat, R.G. ....	24
<u>ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ENANTIÔMEROS DO FEROMÔNIO DE ATRAÇÃO DE <i>Neomegalotomus parvus</i> (HEMIPTERA: ALYDIDAE)</u> Mattos, I.K.S.; Laumann, R.A.; Oliveira, M.W.M.; Borges, M.; Blassioli-Moraes, M.C. ....	25
<u>AVALIAÇÃO DOS GRUPOS FUNCIONAIS DE INSETOS ATRAÍDOS POR ADUBOS VERDES</u> Melo, C.L.; Ribeiro, J.P.C.S.; Sousa, A.A.T.C.; Souza, L.M.; Pires, C.S.S.; Sujii, E.R.....	26
<u>BIOLOGIA DA PRAGA DO MILHO: (<i>Spodoptera frugiperda</i>) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)</u> Viana, M.C.; Benito, N.P.; Viana, J.P.C. ....	27
<u>COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS GLÂNDULAS ABDOMINAIS DE <i>Alphitobius diaperinus</i> (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) E SUA INFLUÊNCIA NO COMPORTAMENTO DE COESPECÍFICOS</u> Hassemer, M.J.; Sant'Ana, J.; Oliveira, M.W.M.; Laumann, R.A.; Borges, M.; Blassioli-Moraes, M.C. ....	28
<u>CONTRIBUIÇÃO DAS FORMIGAS (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) NA PREDÇÃO DE OVOS DE LAGARTA EM SISTEMAS ORGÂNICO DE HORTALIÇAS</u> Frizzo, T.L.M.; Sujii, E.R. ....	29

**DIVERSIDADE DE ABELHAS EM CULTURA DE ABOBOREIRA *Cucurbita pepo* L. NO DISTRITO FEDERAL: INFLUÊNCIA DO SISTEMA DE PRODUÇÃO E DA PAISAGEM**

Torezani, K.R.S.; Laumann, R.A.; Sujii, E.R.; Pires, C.S.S. ....30

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE GALINHA CAIPIRA (*Gallus gallus domesticus*) NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL**

Reis, E.C.; Biazio, G.R.; Albuquerque, M.S.M.; Castro, S.T.R. ....31

**EFEITO DO MOMENTO DA APLICAÇÃO DO BENZOATO DE ESTRADIOL EM PROTOCOLOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM FÊMEAS DA RAÇA CURRALEIRO PÉ-DURO**

Santos, R.; Tortorella, R.D.; Teixeira, H.C.A.; Ramos, A.F. ....32

**EMERGÊNCIA FOLICULAR OVARIANA EM OVELHAS SUBMETIDAS A DIFERENTES DOSES DE 17 $\beta$ -ESTRADIOL ASSOCIADO À PROGESTERONA**

Brasil, O. O.; Monteiro, S.S.; Moreira, N.H.; Ramos, A.F. ....33

**ESTRATÉGIAS PARA MELHORAR A SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO DE OVELHAS DESLANADAS, UTILIZANDO PROTOCOLOS COM CIDR**

Moreira, N.H.; Brasil, O.O.; Silva, P.C.P.; Saavedra, C.A.P.B.; Silva, J.P.; Azevedo, H.C.; Lanella, P.; Ramos, A.F. ....34

**FATORES DE MORTALIDADE DE *Bemisia tabaci* EM SISTEMAS ORGÂNICOS E CONVENCIONAIS DE CULTIVO DE TOMATE**

Santos, J.P.C.R.; Souza, L.M.; Pires, C.S.S.; Sujii, E.R.; Togni, P.H.B. ....35

**INFLUÊNCIA DE DOIS HOMOTERPENOS ACÍCLICOS NO COMPORTAMENTO DE FORRAGEAMENTO DE *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)**

Magalhães, D.M.; Borges, M.; Laumann, R.A.; Woodcock, C.M.; Pickett, J.A.; Birkett, M.A.; Blassioli-Moraes, M.C. ....36

**INFLUÊNCIA DE VOLÁTEIS DE DIFERENTES ESPÉCIES DE PLANTAS INDUZIDOS POR HERBIVORIA DO PERCEVEJO POLÍFAGO *Euschistus heros* NO COMPORTAMENTO DE FORRAGEAMENTO DO PARASITÓIDE DE OVOS *Telenomus podisi***

Laia, M.; Dias, A.; Pareja, M.F.; Blassioli-Moraes, M.C.; Borges, M.; Laumann, R.A. ....37

**INFLUÊNCIA DO PARASITISMO POR *Hexacladia* sp. (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE) EM PARÂMETROS BIOLÓGICOS DO PERCEVEJO MARROM, *Euschistus heros* (FABRICIUS, 1798 (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)**

Sousa, V.S.; Aquino, M.F.S.; Laumann, R.A.; Borges, M.; Blassioli-Moraes, M.C.; Sujii, E.R. ....38

**O ÁCARO DAS GEMAS DO CACAUEIRO, *Aceria reyesi* (NUZZACI) - DINÂMICA POPULACIONAL EM DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO E EM ÁREAS NATURAIS EM RONDÔNIA**

Araújo, F.; Ferragut, F.; Silva, R.A.M.; Trevisan, O.; Benito, N.P.; Navia, D. ....39

**PARASITÓIDES DE ADULTOS DE PERCEVEJOS PRAGAS DA SOJA NO DISTRITO FEDERAL: INCIDÊNCIA E COMPORTAMENTO**

Aquino, M.F.S.; Blassioli-Moraes, M.C.; Borges, M.; Laumann, R.A.; Sujii, E.R. ....40

**PROSPECÇÃO DE SEMIOQUÍMICOS E ESTUDOS COMPORTAMENTAIS DE INSETOS *Hypothenemus hampei* ASSOCIADOS A PLANTAS DE CAFÉ**

Morais, S.D.M.; Blassioli-Moraes, M.C.; Laumann, R.A.; Meneguim, A.N.; Borges, M. ....41

**PURIFICAÇÃO DE SEMIOQUÍMICOS 1,3 DIENOS UTILIZANDO PTAD**

Freitas, D.S.; Oliveira, M.W.M.; Borges, M.; Laumann, R.A.; Blassioli-Moraes, M.C. ..42

**RESISTÊNCIA DE DIFERENTES POPULAÇÕES DE *Spodoptera frugiperda* DE MILHO-BT ORIUNDAS DA BAHIA E DE GOIÁS ESTÃO CORRELACIONADAS À BAIXA EXPRESSÃO DE ALCALINO FOSFATASES (ALP)**

Macedo, C.L.; Martins, E.S.; Queiroz, P.R.; Praça, L.B.; Soares, C.M.S.; Eckstein, B.; Santos, H.M.; Grisi, I.; Gómez, I.; Soberon, M.; Bravo, A.; Monnerat, R.G.....43

**VARIABILIDADE GENÉTICA E FILOGEOGRAFIA MOLECULAR DE POPULAÇÕES DO ÁCARO VERMELHO DAS PALMEIRAS**

Rosa, N.D.; Mendonça, R.S.; Gondin Jr., M.G.C.; Oliveira, D.C.; Castro, T.M.M.G.; Moraes, G.J.; Navia, D. ....44

**Reprodução Animal.....45**

**ALTERAÇÕES PLACENTÁRIAS E DE CORDÃO UMBILICAL ASSOCIADAS COM VIABILIDADE NEONATAL EM BEZERROS CLONES**

Silveira, M.M.; Bayão, H.; Borges, N.A.; Mendonça, A.S.; Rumpf, R.; Franco, M.M.....46

**CAPACIDADE DO ESPERMATOZÓIDE DO EPIDÍDIMO DE SE LIGAR A AGREGADOS DE CÉLULAS DA TUBA UTERINA**

Cunha, A.T.M.; Carvalho Neto, J.O.; Dode, M.A.N. ....47

**CARACTERIZAÇÃO DO PADRÃO DE METILAÇÃO DO GENE IMPRINTED IGF2 EM OVÓCITOS DURANTE A FOLICULOGÊNESE BOVINA**

Mendonça, A.S.; Guimarães, A.L.S.; Silva, N.M.A.; Caetano, A.R.; Dode, M.A.N.; Franco, M.M. ....48

**CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO DE EMBRIÕES SUÍNOS DA RAÇA PIAU**

Carvalho Neto, J.O.; Sprícigo, J.F.W.; Silva, L.P.; Leme, L.O.; Silva, B.D.M.; Ramos, A.F.; Dode, M.A.N. ....49

**DESENVOLVIMENTO DE UM TESTE MOLECULAR BASEADO NA AMPLIFICAÇÃO DO DNA MITOCONDRIAL POR PCR MULTIPLEX PARA IDENTIFICAÇÃO DE MUARES E BARDOTOS**

Silva, T.C.F.; Santos, J.B.F.; Mendonça, A.S.; Teixeira, A.B.S.; Caetano, A.R.; Silva, N.M.A.; Antunes, R.C.; Franco, M.M. ....50

**EFEITO DA CRIOPRESERVAÇÃO NA VIABILIDADE E LONGEVIDADE DE ESPERMATOZÓIDES DO EPIDÍDIMO DE TOUROS EXPOSTOS OU NÃO AO PLASMA SEMINAL**

Cunha, A.T.M.; Carvalho Neto, J.O.; Dode, M.A.N. ....51

**EFEITO DA FONTE PROTÉICA DURANTE O CULTIVO NA RESPOSTA DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO AO CONGELAMENTO LENTO**

Sena-Netto, S.B.; Sprícigo, J.F.W.; Simões, L.M.S.; Leme, L.O.; Dode, M.A.N.; Pivato, I. ....52

**EFEITO DA VITRIFICAÇÃO PELO MÉTODO CRYOTOP NO PERFIL DA EXPRESSÃO DE GENES DE EMBRIÕES BOVINO PRODUZIDOS IN VITRO**

Leme, L.O.; Dufort, I.; Sprícigo, J.F.W.; Braga, T.F.; Sirard, M.A.; Franco, M.M.; Dode, M.A.N. ....53

**EFEITO DO CULTIVO IN VITRO NO TAMANHO E SEXO DE EMBRIÕES BOVINOS NO D14 DE DESENVOLVIMENTO**

Guimarães, A.L.S.; Carvalho Neto, J.O.; Leme, L.O.; Sprícigo, J.F.W.; Pivato, I.; Dode, M.A.N. ....54

**EFEITO DO FATOR DE CRESCIMENTO DE FIBROBLASTO-10 DURANTE A PRÉ-MIV E MIV NA QUALIDADE DE EMBRIÕES BOVINOS PIV**

Diógenes, M.N.; Guimarães, A.L.S.; Leme, L.O.; Dode, M.A.N. ....55

**PADRÃO DE METILAÇÃO DO GENE IGF2 DE CÉLULAS DO TROFOBLASTO DE EMBRIÕES BOVINOS EM D14 COM DIFERENTES TAMANHOS**

Leme, L.O.; Carvalho Neto, J.O.; Franco, M.M.; Dode, M.A.N. ....56

**PERFUSÃO SANGUÍNEA NO FOLÍCULO PRÉ-OVULATÓRIO EM VACAS NELORE SUBMETIDAS A PROTOCOLOS DE IATF**

Scaliante-Junior, J.R.; Franco, M.M.; Rodrigues, S.A.D.; Silva, B.D.M. ....57

**PROTOCOLO HORMONAL EM BEZERRAS NELORE PARA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES**

Zacarias, T.A.; Guimarães, A.L.S.; Scaliante Jr., J.R.; Rodrigues, S.A.D.; Dode, M.A.N.; Figueiredo, R.A. ....58

**RESPOSTA DE EMBRIÕES SUÍNOS DAS RAÇAS PIAU E MOURA À VITRIFICAÇÃO POR CRYOTOP**

Leme, L.O.; Sprícigo, J.F.W.; Silva, P.C.P.; Diógenes, M.N.; Franco, M.M.; Ramos, A.F.; Dode, M.A.N. ....59

**TRANSFERÊNCIA INTRAFOLICULAR DE OVÓCITOS IMATUROS: UMA ALTERNATIVA PARA A MULTIPLICAÇÃO DE FÊMEAS BOVINAS**

Sprícigo, J.F.W.; Sena-Netto, S.B.; Simões, L.M.S.; Leme, L.O.; Guimarães, A.L.S.; Pivato, I.; Dode, M.A.N. ....60

**VALIDAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES PARA COMPETÊNCIA OVOCITÁRIA EM CÉLULAS DO CUMULUS BOVINAS**

Kussano, N.R.; Leme, L.O.; Guimarães, A.L.S.; Franco, M.M.; Dode, M.A.N. ....61

**Microrganismos** .....62

**ANÁLISE COMPARATIVA DA VARIABILIDADE GENÉTICA E PATOGENICIDADE DE CINCO ISOLADOS DE *Helicoverpa armigera* NPV**

Santos, L.A.V.M.; Araujo, S.K.; Craveiro, S.R.; Ribeiro, Z.M.A.; Gomes, A.C.M.M.; Soares, C.M.S.; Castro, M.E.B. ....63

**ANÁLISE DE RESTRIÇÃO DO DNA DO *Erinnyis ello Granulovírus* (ISOLADO DO ACRE)**

Barros, A.M.R.; Alcantara, G.L.; Sanches, M.M.; Sihler, W.; Souza, M.L. ....64

**ANÁLISES MORFOLÓGICA E DE PROTEÍNAS ESTRUTURAIS DE ISOLADOS VIRAIS DE *Chrysodeixis includens***

Araujo, S.K.; Craveiro, S.R.; Santos, L.A.V.M.; Ribeiro, Z.M.A.; Gomes, A.C.M.M.; Soares, C.M.S.; Castro, M.E.B. ....65

**AVALIAÇÃO DA DENSIDADE POPULACIONAL DE FUNGOS DO GÊNERO *Trichoderma* EM SOLOS CULTIVADOS EM SISTEMAS ORGÂNICOS COM ADUBAÇÃO VERDE**

Mendes, N.M.; Silva, J.B.T.; Menezes, J.E.; Martins, I.; Mello, S.C.M. ....66

**CARACTERIZAÇÃO GENÔMICA DE BACULOVÍRUS ISOLADO DE LARVAS DE *Plutella xylostella* EM REGIÕES DO DISTRITO FEDERAL**

Craveiro, S.R.; Chaves, L.C.S.; Tagliari, M.; Togawa, R.C.; Grynberg, P.; Ribeiro, Z.M.A.; Inglis, P.W.; Ribeiro, B.M.; Castro, M.E.B. ....67

**CLONAGEM DO GENOMA COMPLETO DO *Cowpea mild mottle virus* ISOLADO DE FEIJOEIRO**

Gimenes, N.C.; Alves-Freitas, D.M.T.; Faria, J.C.; Lacorte, C.; Melo, F.L.; Ribeiro, S.G. ....68

**CONTROLE DA BROCA DO MOGNO, *Hypsipyla grandella* ZELLER (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE), COM O USO SISTÊMICO DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER**

Castro, M.T.; Montalvão, S.C.L.; Monnerat, R.G. ....69

**DETECÇÃO DE DOIS ENDORNAVIRUS EM GENÓTIPOS DE FEIJÃO NO BRASIL**

Ribeiro, G.C.; Alves-Freitas, D.M.T.; Matos, V.O.R.L.; Faria, J.C.; Ribeiro, S.G.....70

**DETECÇÃO ESPECÍFICA DE CINCO BEGOMOVIRUS EM FEIJOEIRO E PLANTAS DANINHAS NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

Matos, V.O.R.L.; Lamas, N.S.; Alves-Freitas, D.M.T.; Ribeiro, S.G. ....71

**DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE SINÉRGICA DE TOXINAS DE *Bacillus thuringiensis* PARA *Aedes aegypti***

Almeida, Z.G.; Martins, E.S.; Monnerat, R.G. ....72

**DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES EM COGUMELOS DA COLEÇÃO DA EMBRAPA E DE PRODUTORES RURAIS**

Cavalcante, R.S.; Magarelli, G.; Polez, V.L.P.; Urban, A.F.; Castro, C.S.P. ....73

**DIVERSIDADE DE BEGOMOVIRUS NO VETOR MOSCA BRANCA (*Bemisia tabaci*) E PLANTAS HOSPEDEIRAS**

Fontenele, R.S.; Costa, L.C.; Lamas, N.S.; Sanches, M.M.; Campos, M.A.; Ribeiro, S.G. ....74

**EFICIÊNCIA DE PRODUTOS BIOLÓGICOS COMERCIAIS A BASE DE *Bacillus* sp. NO BIOCONTROLE DE *Meloidogyne incognita* RAÇA 3 DO ALGODOEIRO (*Gossypium hirsutum* L.) EM CASA DE VEGETAÇÃO**

Montalvão, S.C.L.; Castro, M.T.; Soares, C.M.S.; Carneiro, R.M.D.G.; Blum, L.E.B.; Monnerat, R.G. ....75

**ESTUDO DE VARIAÇÃO GENÔMICA EM *Pseudoplusia includens* SNPV**

Craveiro, S.R.; Santos, L.A.V.M.; Togawa, R.C.; Grynberg, P.; Ribeiro, Z.M.A.; Inglis, P.W.; Castro, M.E.B. ....76

**EXPLORANDO O USO DO GENE CITOCROMO C OXIDASE I PARA A IDENTIFICAÇÃO DE FITONEMATÓIDES**

Rodrigues, L.S.; Mendonça, R.S.; Santos, M.D.M.; Gonzaga, V. ....77

**EXTRATOS E FRAÇÕES AQUOSAS DE SEMENTES DE PLANTAS DA FAMÍLIA SOLANACEAE EFETIVO NO CONTROLE DE *Meloidogyne incognita***

Ferreira, P.D.S.; Silveiro, B.C.; Rocha, T.L. ....78

**EVOLUÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE DE *Helicoverpa armigera* HÜBNER EM CAMPO À PROTEÍNAS Bt – SAFRA DE MILHO 2014/2015**

Tomazette, M.R.; Cavalin, E.K.; Monnerat, L.G.; Saraiva, J.; Eckstein, B.; Moraes, S.V.; Monnerat, R.G. ....79

**FUNGOS INTERCEPTADOS PELA ESTAÇÃO QUARENTENÁRIA VEGETAL NÍVEL 1 DA EMBRAPA EM 2014 E 2015**

Nascimento, F.B.; Mendes, M.A.S.; Urban, A.F.; Mattos, F.L.F.; Lima, L.S. ....80

**IDENTIFICAÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER TÓXICAS PARA *Spodoptera frugiperda* J. E. SMITH (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE), *Helicoverpa armigera* HÜBNER (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E *Anticarsia gemmatilis* HÜBNER (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Tomazette, M.R.; Caixeta, C.F.; Cavallin, E.K.; Saraiva, J.; Georgen, L.M.; Scarabuci, L.T.; Damaceno, N.B.; Almeida, Z.; Martins, E.S.; Praça, L.B.; Eckstein, B.; Monnerat, R.G. ....81

**ISOLAMENTO DE FUNGOS DO GÊNERO *Trichoderma* CONSIDERANDO O TEMPO DE ARMAZENAMENTO DE SOLOS EM DIFERENTES TEMPERATURAS**

Paula, A.R.; Silva, J.B.T.; Mello, S.C.M. ....82

**MARCADORES MICROSSATÉLITES ASSOCIADOS A QTLs DE RESISTÊNCIA A *Meloidogyne incognita* RACA 3 EM *Gossypium barbadense***

Gomez, G.M.; Moretzsohn, M.C.; Giband, M.; Silva, E.; Silva, J.G.P.; Furnaletto, C.; Carneiro, R.M.D.G. ....83

**PRIMEIRO RELATO DE *Meloidogyne konaensis* PARASITANDO PLANTAS HORTÍCULAS NO ESTADO DO CEARÁ**

Monteiro, J.M.S.; Cares, J.E.; Gomes, A.C.M.M.; Almeida, M.R.A.; Silva, M.C.L.; Santos, C.D.G.; Carneiro, R.M.D.G. ....84

**PRIMEIRO RELATO DE *Sida micrantha* MOSAIC VIRUS EM *Oxalis* spp.**

Lamas, N.S.; Ribeiro, G.C.; Fontenele, R.S.; Ribeiro, S.G. ....85

**PROSPECÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus* spp. ATIVAS CONTRA O NEMATÓIDE *Caenorhabditis elegans***

Mendonça, J.S.; Montalvão, S.C.L.; Eckstein, B.; Monnerat, R.G. ....86

**SELEÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* PARA CONTROLE DO BICUDO DO ALGODOEIRO - *Anthonomus grandis* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)**

Bernardes, F.G.; Rodrigues, R.C.R.; Holanda, R.A.; Martins, E.S.; Queiroz, P.R.; Eckstein, B.; Monnerat, R.G. ....87

**SEQUENCIAMENTO DE ALTO DESEMPENHO PARA IDENTIFICAÇÃO DE VÍRUS EM AMOSTRAS DE FEJOEIRO**

Alves-Freitas, D.M.T.; Melo, F.L.; Faria, J.C.; Ribeiro, S.G.....88

**SUSCEPTIBILIDADE DE LAGARTAS DA ESPÉCIE *Helicoverpa armigera* (HÜBNER, 1808) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) A PROTEÍNAS Cry DE *Bacillus thuringiensis***

Cavallin, E.K.S.; Tomazette, M.R.; Goergen, L.M.; Damaceno, N.B.; Martins, E.S.; Ferreira, B.C.; Eckstein, B.; Monnerat, R.G. ....89

**SUSCEPTIBILIDADE DE POPULAÇÕES DE *Spodoptera frugiperda* J.E. SMITH (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) ORIUNDAS DE ALGODÃO TRANSGÊNICO (975WS) DO ESTADO DO MATO GROSSO ÀS TOXINAS Cry1Ac E Cry1F DE *Bacillus thuringiensis***

Goergen, L.M.; Eckstein, B.; Macedo, C.L.; Martins, E.S.; Soares, C.M.S.; Vicentino, G.C.; Almeida, Z.; Damaceno, N.B.; Monnerat, R.G. ....90

**TRATAMENTO DE SEMENTES DE ALGODÃO COM *Bacillus thuringiensis* VISANDO O DESENVOLVIMENTO VEGETAL E O CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda***

Costa, F.S.S.; Praça, L.B.; Mendes, A.C.M.M.; Soares, C.M.S.; Monnerat, R.G. ....91

**UTILIZAÇÃO DE *Caenorhabditis elegans* COMO MODELO PARA SELEÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus* spp. TÓXICAS A *Meloidogyne incognita* RAÇA 3**

Montalvão, S.C.L.; Castro, M.T.; Soares, C.M.S.; Carneiro, R.M.D.G.; Blum, L.E.B.; Monnerat, R.G. ....92

**VARIABILIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Meloidogyne paranaensis* POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES**

Santos, M.F.A.; Peixoto, J.R.; Mattos, V.S.; Almeida, M.R.A.; Castagnone-Sereno, P.; Carneiro, R.M.D.G. ....93

**Vegetais .....94**

**ANÁLISE DA SIMILARIDADE DE GENÓTIPOS CULTIVADOS DE *Capsicum chinense* UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES**

Leite, P.H.S.; Canela, F.M.; Carvalho, N.; Reifschneider, F.B.; Ferreira, M.A.; Buso, G.S.C. ....95



**ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DO GÊNERO *Mentha* UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES ISSR**

Canella, F.M.; Leite, P.H.S.; Ferreira, M.A.; Carvalho, N.; Silva, D.B.; Vieira, R. F.; Buso, G.S.C. ....96

**ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE LINHAGENS DE MELÃO UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES SSR**

Carvalho, N.; Canella, F.M.; Ferreira, M.A.; Oliveira, V.R.; Santos, M.F.; Souza, N.O.S.; Buso, G.S.C. ....97

**ANÁLISE DE PERFIS PROTÉICOS DA INTERAÇÃO PLANTA-*Xanthomonas campestris* UTILIZANDO ESPECTROMETRIA DE MASSA MALDI-TOF**

Santos, I.R.; Ribeiro, D.G.; Carmo, L.S.T.; Oliveira Neto, O.B.; Silva, L.P.; Mehta, A. .... 98

**ANATOMIA FOLIAR NO AUXÍLIO À TAXONOMIA DO COMPLEXO BABAÇU**

Mata, L.R.; Moretzsohn, M.C.; Gomes, S.M.; Cavallari, M.M.; Azevedo, V.C.R. ....99

**BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO: EFEITOS NO DESENVOLVIMENTO AGRÔNOMICO DO RABANETE**

Sousa, A.A.T.C.; Figueiredo, C.C.; Sujii, E.R.; Pires, C.S.S.; Souza, L.M. ....100

**DIGITALIZAÇÃO E GESTÃO DE DOCUMENTOS DO SETOR DE INTERCÂMBIO E QUARENTENA DE GERMOPLASMA VEGETAL**

Barros, L.C.; Dorcas, E.R.; Benito, N.P.; Ferreira, F.R. ....101

**DINÂMICA NATURAL DO COMPONENTE ARBÓREO EM UM TRECHO DE MATA DE GALERIA INUNDÁVEL NA FAZENDA SUCUPIRA, BRASÍLIA, DF**

Martins, M.S.; Walter, B.M.T. ....102

**DISTRIBUIÇÃO DE RETROTRANSPOSONS DO TIPO LTR E SEQUÊNCIAS DE DNA RIBOSSÔMICAS EM CROMOSSOMOS DE *Arachis* spp. POR HIBRIDIZAÇÃO IN SITU FLUORESCENTE - FISH**

Nascimento, E.F.M.B.; Vidigal, B.S.; Bertoli, D.J.; Leal-Bertoli, S.; Fonseca, A.; Brasileiro, A.C.M.; Guimarães, P.M.; Araújo, A.C.G. ....103

**GENÔMICA COMPARATIVA DE RECEPTORES PUTATIVOS ACOPLADOS À PROTEÍNA G EM PLANTAS**

Bresso, E.; Grynberg, P.; Togawa R.C.; Martins, N.F.; Maigret, B. ....104

**IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS ASSOCIADAS AO DÉFICIT HÍDRICO EM ESPÉCIE SILVESTRE DE *Arachis***

Martins, A.C.Q.; Martins, C.C.C.; Carmo, L.S.T.; Silva, L.P.; Araújo, A.C.G.; Guimarães, P.M.; Brasileiro, A.C.M.; Mehta, A. ....105

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE ESPÉCIES DO COMPLEXO BABAÇU (*Attalea* spp.)**

Mata, L.R.; Inglis, P.W.; Cavallari, M.M.; Moretzsohn, M.C.; Azevedo, V.C.R. ....106

**MANEJO AGROECOLÓGICO DE PLANTAS DE MARGARIDÃO (*Tithonia diversifolia*) E A ABUNDÂNCIA TEMPORAL DE INSETOS ASSOCIADOS**

Harterreiten-Souza, E.S.; Souza, L.M.; Pires, C.S.S.; Pujol-Luz, J.R.; Sujii, E.R. ....107

**MECANISMOS DE AÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA SINTETIZADAS VIA SÍNTESE VERDE UTILIZANDO-SE EXTRATO AQUOSO VEGETAL EM LINHAGEM DE CÉLULAS DE CÂNCER DE PELE NÃO-MELANOMA A431**

Ombredane, A.S.; Silva, L.P.; Polez, V.L.P.; Joanitti, G.A. ....108

**NOVOS MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA ESTUDO DA VARIABILIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE CAGAITA**

Francisconi, A.F.; Vasconcelos, P.B.; Scariot, A.O.; Azevedo, V.C.R. ....109

**REGENERAÇÃO DE CALOS EMBRIOGÊNICOS DAS CULTIVARES MOMBAÇA E TANZÂNIA DE *Panicum maximum***

Amorim, P.S.P.; Cabral, G.B.; Jank, L.; Carneiro, V.T.C.; Dusi, D.M.A. ....110

**REVISÃO DO NÚMERO CROMOSSÔMICO DE ESPÉCIES DE *Paspalum* L. CONSERVADAS NO BANCO DE GERMOPLASMA DA EMBRAPA**

Paiva, D.S.; Santos, S.; Fávero, A.P.; Pozzobon, M.T. ....111

**SUPEREXPRESSÃO DE GENES DE ALGODÃO POTENCIALMENTE ENVOLVIDOS NA RESISTÊNCIA A *Meloidogyne incognita* EM PLANTA MODELO**

Santos, C.; Labuto, L.B.D.; Carmo, L.S.T.; Carneiro, R.M.D.G.; Grossi-de-Sá, M.F.; Mehta, A. ....112

**SUPEREXPRESSÃO DO GENE LEA DE *Arachis duranensis* EM PLANTAS TRANSGÊNICAS DE *Arabidopsis thaliana***

Oliveira, T.N.; Williams, C.C.V.; Williams, T.C.R.; Araujo, A.C.G.; Guimarães, P.M.; Brasileiro, A.C.M. ....113

**TÉCNICAS DE DIVERSIFICAÇÃO DA VEGETAÇÃO AUMENTAM A DIVERSIDADE DE INIMIGOS NATURAIS NA PAISAGEM AGRÍCOLA?**

Fagundes, M.R.M.; Santos, J.P.C.R.; Harterreiten-Souza, E.S.; Souza, L.M.; Pires, C.S.S.; Sujii, E.R. ....114

**TRANSFORMAÇÃO DE *Arabidopsis thaliana* COM PROMOTORES ISOLADOS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) E SOJA (*Glycine max* L.)**

Quintanilha, M.V.T.; Braga, H.C.A.; Ribeiro, R.M.; Barros, L.M.G.; Falcão, L.L.; Marcellino, L.H.; Almeida, J.D.; Silva-Werneck, J.O. ....115

**TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE TOMATEIRO (CV SANTA CLARA) PARA A OBTENÇÃO DE PLANTAS COM TOLERÂNCIA AO HERBICIDA CONTAIN®**

Ferreira, P.; Lacorte, C. ....116

**VALIDAÇÃO DE GENES CANDIDATOS À RESISTÊNCIA A *Meloidogyne arenaria* EM AMENDOIM UTILIZANDO UM SISTEMA DE TRANSFORMAÇÃO MEDIADO POR *Agrobacterium rhizogenes***

Pereira, B.M.; Canales, H.P.R.; Guimarães, L.A.; Araujo, A.C.G.; Brasileiro, A.C.M.; Guimarães, P.M. ....117

**VALIDAÇÃO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES EM *Musa sp.*, PARA POTENCIAIS GENES DE RESISTÊNCIA E DEFESA À SIGATOKA NEGRA E AMARELA**

Dias, M.A.; Miller, R.N.G.; Azevedo, V.C.R. ....118

**VARIABILIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Caryocar brasiliense* CAMB. E *Dipteryx alata* VOG. EM DIFERENTES CONTEXTOS DE USO DA TERRA: IMPACTOS E PRIORIDADES PARA CONSERVAÇÃO**

Barreto, F.A.T.; Aragão, N.B.R.; Scariot, A.O.; Azevedo, V.C.R. ....119

**ÍNDICE DE AUTORES ..... 120**

**ÍNDICE DE ORIENTADORES ..... 126**

**ÍNDICE DE INSTITUIÇÕES ..... 127**



## ANIMAIS

## **ANÁLISE DE AMPLA ASSOCIAÇÃO DO GENOMA – GWAS: UMA APLICAÇÃO DE SELEÇÃO POR TORNEIOS**

Saavedra, C.A.P.B.<sup>1</sup>; Gomes, E.M.C.<sup>2</sup>; Caetano, A.R.<sup>3</sup>; Paiva, S.R.<sup>4</sup>; Silva, J.P.<sup>5</sup>

O presente trabalho tem como objetivo identificar possíveis SNPs responsáveis pela cor da pelagem de ovinos da raça Morada Nova. Dados de genotipagem de 60 animais, consistindo em aproximadamente 54.000 SNPs e característica fenotípica de interesse (cor da pelagem), foram processados inicialmente para exclusão de amostras e marcadores inconsistentes. Em seguida, foram construídos modelos logísticos univariados, onde a variável resposta era a cor da pelagem e a variável preditora era um único SNP do conjunto de todos os disponíveis. Foram excluídos SNPs que apresentaram p-valor acima de 25%, restando aproximadamente 27.000. Mesmo após uma filtragem inicial, o número de SNPs restantes continuou elevado de modo a acarretar problemas para o uso de métodos estatísticos convencionais. Para contornar os problemas decorrentes da explosão de graus de liberdade, causada pela grande quantidade de SNPs, será implementada uma seleção por torneios, que consiste em subdividir o conjunto de convariáveis iniciais em subconjuntos disjuntos, utilizando modelo de regressão logística multivariada em cada subconjunto e selecionando SNPs menos promissores, usando p-valor como critério. O procedimento é repetido até que se chegue a um número de SNPs desejado, previamente estabelecido, para uma modelagem final.

Apoio: Cenargen e UnB.

---

<sup>1</sup> Estatística, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Estatística, D.Sc., Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Ciências Animais, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Genética e Melhoramento, Ph.D., Embrapa Secretaria de Relações Internacionais

<sup>5</sup> Estatística, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## ANÁLISE FAUNÍSTICA E FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE MOSCAS-DAS-FRUTAS (DIPTERA: TEPHRITIDAE) NO DISTRITO FEDERAL

Viana, J.P.C.<sup>1</sup>; Barbosa, A.V.<sup>1</sup>; Viana, M.C.<sup>1</sup>; Lopes-da-Silva, M.<sup>2</sup>

As moscas das frutas possuem importância econômica devido aos sérios prejuízos para a fruticultura nacional. Os danos causados podem variar de acordo com a época do ano, condições climáticas e hospedeiros, podendo afetar até 100% da produção de frutos. O presente estudo teve como objetivo a análise faunística e flutuação populacional das moscas-das-frutas no Distrito Federal e foi realizado no período de março de 2015 a agosto de 2015. A captura das moscas aconteceu por meio de armadilhas do tipo McPhail instaladas em goiabeiras da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen). Em cada armadilha foi usado atrativo alimentar a base de suco de goiaba na proporção de ¼ de suco para ¾ de água (50 mL de suco para 150 mL de água em cada armadilha). As coletas foram realizadas duas vezes por semana em intervalos de três ou quatro dias. Após cada coleta, as armadilhas eram lavadas, os atrativos trocados e os indivíduos armazenados em potes de 20 mL contendo álcool 70% para a conservação dos espécimes para posterior identificação. Os indivíduos coletados foram identificados na Unidade de Entomologia do Laboratório de Quarentena Vegetal do Cenargen. Para identificação das espécies do gênero *Anastrepha* foram observados o padrão alar, torácico, do subscutelo, mediotergito e características morfológicas do ápice do acúleo das fêmeas e, para *Ceratitis capitata* foram observadas as características morfológicas das asas, cerdas pós-oculares e escutelares. Foram capturados um total de 650 indivíduos de moscas das frutas sendo 613 do gênero *Anastrepha* (278 machos e 335 fêmeas) e 37 *Ceratitis capitata* (6 machos e 31 fêmeas). Foi registrada a ocorrência de oito espécies durante a realização do estudo, *Anastrepha bistrigata*, *Anastrepha fraterculus*, *Anastrepha grandis*, *Anastrepha leptozona*, *Anastrepha serpentina*, *Anastrepha striata*, *Anastrepha obliqua* e *Ceratitis capitata*, restando 4 exemplares ainda não identificados. Para as espécies do gênero *Anastrepha* os maiores índices de captura foram durante o mês de março, período de maior frutificação da goiaba, seguido de baixas nos níveis populacionais nos meses seguintes. Para *Ceratitis capitata* percebeu-se o comportamento inverso, com níveis populacionais baixos durante o mês de março e aumentos crescentes até o mês de julho, mês de maior ocorrência da espécie.

Apoio: Embrapa.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Faculdade Anhanguera de Brasília-FAB

<sup>2</sup> Entomologia, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **ATAQUE DE *Hypsipyla grandella* ZELLER (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) EM CÁPSULAS DE CEDRO NO DISTRITO FEDERAL**

Castro, M.T.<sup>1</sup>; Montalvão, S.C.L.<sup>2</sup>; Monnerat, R.G.<sup>3</sup>

O cedro (*Cedrela fissilis* Vell. e *Cedrela odorata* L.) possui ampla distribuição na América Latina, desde o norte da Argentina e Paraguai e na América Central chegando ao Panamá e Costa Rica. No Brasil, ele ocorre comumente nas matas secas, nas regiões Leste e Sul podendo chegar até as regiões do Centro-Oeste, Norte e Nordeste. É uma espécie de grande plasticidade silvicultural e é muito utilizada na arborização urbana, embora o seu cultivo em larga escala seja inibido pelo ataque de *Hypsipyla grandella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) em mudas e broto terminal. Não há na literatura dados sobre o ataque do inseto em frutos de cedro, assim como estudos sobre o comportamento de ataque. Este trabalho teve como objetivo registrar a ocorrência de *H. grandella* em árvores de cedro utilizadas na arborização urbana de Brasília, Distrito Federal, bem como estudar a dinâmica do ataque do inseto em frutos, que são do tipo cápsula. Para tanto, foram coletadas 283 cápsulas caídas de árvores de cedro situadas em Brasília, Distrito Federal, durante os meses de janeiro a abril de 2014, época de produção e maturação de frutos. As cápsulas eram, em sua maioria, imaturas, com sementes em desenvolvimento. Cada cápsula foi analisada individualmente quanto à presença da *H. grandella* e aspectos comportamentais relacionados à predação dos frutos foram observados e relatados. O número de lagartas e pupários foram contabilizados e os orifícios criados pelo inseto foram medidos. No total, foram encontradas 128 lagartas e 41 pupários no interior das cápsulas. Todas as cápsulas que continham lagartas ou pupas apresentaram orifícios, com média de 5 mm de diâmetro, utilizados pelas lagartas para a liberação de excrementos e posterior saída quando adultos. Os insetos se alimentaram primordialmente das sementes e posteriormente da columela, destruindo-as completamente. Foi encontrada, geralmente, uma lagarta por cápsula, porém houve uma amostra com quatro. Não foi encontrado mais de um pupário por cápsula nas amostras coletadas. Os frutos mais velhos e secos ainda fechados, não abertos pela deiscência natural, estavam com teia no ponto de abscisão, como forma da cápsula permanecer suspensa na árvore até o inseto completar o seu ciclo, fato não observado quando o ataque é feito em frutos de mogno (*Swietenia macrophylla* King). A partir do presente estudo, foi possível constatar a presença e permanência de *H. grandella* em árvores de cedro durante os meses de janeiro a abril, época de produção e maturação de frutos da espécie, servindo como inoculo para futuros plantios, tanto de produção comercial como para fins paisagísticos, de Meliaceae na região do Distrito Federal.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

---

<sup>1</sup> Agronomia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



## ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ENANTIÔMEROS DO FEROMÔNIO DE ATRAÇÃO DE *Neomegalotomus parvus* (HEMIPTERA: ALYDIDAE)

Mattos, I.K.S.<sup>1</sup>; Laumann, R.A.<sup>2</sup>; Oliveira, M.W.M.<sup>3</sup>; Borges, M.<sup>2</sup>; Blassioli-Moraes, M.C.<sup>4</sup>

O percevejo-manchador, *Neomegalotomus parvus* (Hemiptera, Alydidae), é uma importante praga nas culturas de feijão e soja. A presença deste inseto em lavouras tem causado prejuízos importantes, tais como a redução do peso do grão, sua descoloração e a alta mortalidade de sementes. As estratégias de controle têm incluído, principalmente, o uso indiscriminado de inseticidas. Entretanto, dentro da proposta do manejo integrado de pragas, ressalta-se a importância dos semioquímicos como estratégia de monitoramento. Em estudo prévio, foram identificados cinco compostos produzidos por adultos de *N. parvus*: 1) butanoato de hexila, 2) hexanoato de hexila, 3) pentanoato de hexila, 4) 4-metil butanoato de hexila e 5) 4-metil pentanoato de hexila. Destes, os dois pentanoatos são produzidos somente pelas fêmeas. Posteriormente, foi identificado, a partir de cromatografia com coluna quiral, que os compostos 4 e 5 estão na configuração (*R*). Para avaliar a importância destes compostos no comportamento de *N. parvus*, três compostos foram adquiridos comercialmente: butanoato de hexila, pentanoato de hexila e hexanoato de hexila, e os outros dois foram sintetizados em ambas configurações (*R* e *S*). Os insetos utilizados neste trabalho foram criados em laboratório e utilizados virgens e com 5 dias na fase adulta. O comportamento de *N. parvus* foi avaliado em olfatômetro de dupla escolha desenvolvido por Borges e Aldrich (1994). Foram avaliadas as respostas de machos e fêmeas a quatro diferentes soluções sintéticas comparados com hexano, e foi usado uma alíquota de 5 µL. Os tratamentos S1 e R1 possuíam os três compostos comuns aos dois sexos, S1= 4*S*-metil butanoato de hexila 0,1 mg/ml, hexanoato de hexila 0,025 mg/mL e butanoato de hexila 0,1 mg/mL. E R1 a mesma solução só que com o 4*R*-metil butanoato de hexila. Os tratamentos S2 e R2 possuíam os dois compostos específicos das fêmeas, S2= 4*S*-metil pentanoato de hexila 0,001 mg/mL e pentanoato de hexila 0,001 mg/mL e R2 a mesma solução com o enantiômero *R*. Os resultados dos bioensaios mostraram que somente machos da espécie responderam significativamente às misturas que possuíam o enantiômero *R* quando comparado com o hexano. As fêmeas não mostraram resposta significativa a nenhum dos tratamentos avaliados. Para estabelecer a função biológica destes compostos, seja feromônio sexual ou de agregação, é necessário realizar bioensaios com outras combinações dos componentes do feromônio, incluindo a mistura com os cinco compostos.

Apoio: Embrapa, CNPq e FAP-DF.

<sup>1</sup> Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Ecologia Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Química, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **AVALIAÇÃO DOS GRUPOS FUNCIONAIS DE INSETOS ATRAÍDOS POR ADUBOS VERDES**

Melo, C.L.<sup>1</sup>; Ribeiro, J.P.C.S.<sup>2</sup>; Sousa, A.A.T.C.<sup>3</sup>; Souza, L.M.<sup>4</sup>; Pires, C.S.S.<sup>5</sup>; Sujii, E.R.<sup>5</sup>

A adubação verde é uma prática adotada em sistemas agroecológicos, visando a proteção superficial e principalmente a manutenção e melhoria das características físicas, químicas e biológicas do solo. Diversas espécies são utilizadas nessa prática, porém não há muito conhecimento dos insetos associados a essas plantas. O objetivo desse estudo foi avaliar a fauna de insetos associados a diferentes plantas usadas como adubos verdes, com o foco em inimigos naturais e abelhas polinizadoras. O trabalho foi realizado em quatro propriedades de cultivo de hortaliças no Distrito Federal que nunca haviam usado adubação verde em suas práticas de cultivo. Foram realizadas duas coletas (janeiro e fevereiro de 2015) durante o período de floração dos adubos (crotalária, milheto, feijão guandu e nabo forrageiro). Três métodos de amostragem foram usados em cada período de coleta: coleta direta sobre a planta, armadilha adesiva amarela e armadilha de solo do tipo pitfall. Na coleta direta as amostragens totalizaram 12 horas. Duas cartelas adesivas amarelas e duas armadilhas de solo do tipo pitfall foram instaladas sem cada adubo verde. Os insetos foram identificados ao nível de família e separados por grupos funcionais de interesse econômico. Registrou-se para cada método de amostragem a riqueza e abundância dos insetos herbívoros e benéficos. No total, considerando todos os métodos de coleta e todas as plantas e áreas amostradas foram coletados 13.051 indivíduos, distribuídos em dez ordens e 40 famílias. Na coleta direta foram capturados 705 indivíduos classificados em nove ordens e 33 famílias. Desse total, 15 famílias eram de insetos herbívoros e 12 pertenciam ao grupo funcional de inimigos naturais. O grupo funcional dos polinizadores só foi amostrado nas coletas diretas e representado apenas por indivíduos da família Apidae. Os adubos verdes usados nesse estudo atraíram uma grande riqueza de insetos, dentre esses, inimigos naturais e polinizadores foram muito abundantes nessas plantas. Nossos resultados indicam o potencial atrativo dessas plantas para os insetos benéficos por disponibilizarem recursos florais, presas alternativas, sítios de oviposição e local de abrigo. Portanto, essas plantas são capazes de atrair inimigos naturais controladores potenciais de herbívoros-pragas para as áreas de cultivo, proporcionando benefícios aos agroecossistemas.

Apoio: Embrapa e FAP-DF.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup> Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

<sup>3</sup> Agronomia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Entomologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **BIOLOGIA DA PRAGA DO MILHO: (*Spodoptera frugiperda*) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Viana, M.C.<sup>1</sup>; Benito, N.P.<sup>2</sup>; Viana, J.P.C.<sup>1</sup>

Boa parte dos lucros de pequenos e grandes produtores deve-se ao milho, sendo o Brasil é o terceiro maior produtor mundial. Seus usos são diversos, podendo ser utilizado na alimentação humana e animal, na qual é responsável por 70% do volume da alimentação de aves, bovinos e suínos. O trabalho teve como objetivo determinar as temperaturas ideais e limítrofes para o desenvolvimento da espécie. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN). Foi acompanhado o desenvolvimento de 60 lagartas recém eclodidas nas temperaturas: 17°C, 21°C, 25°C, 29°C e 34°C, em câmaras climáticas com variação de  $\pm 1^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 14 horas. O número médio de dias para que *S. frugiperda* complete seu ciclo, da emergência das lagartas até a fase adulta nas cinco temperaturas foi de 84,89; 41,41; 25,46; 19,25 e 19,83 da menor para a maior temperatura. Baseado nesta informação calculou-se a temperatura base ( $T_b$ ) para o desenvolvimento que foi de  $10,78^\circ\text{C}$ , a constante térmica ( $K$ ) de 405,55 graus-dia (GD) e a faixa de temperatura ótima para o desenvolvimento ficou entre 15,26 e  $26,23^\circ\text{C}$ . O desenvolvimento da espécie é representado na equação linear  $Y = 0,0266 - 0,0025 \cdot X$  (com  $R^2 = 0,91$ ).

Apoio: Embrapa.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Faculdade Anhanguera de Brasília-FAB

<sup>2</sup> Entomologia, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS GLÂNDULAS ABDOMINAIS DE *Alphitobius diaperinus* (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) E SUA INFLUÊNCIA NO COMPORTAMENTO DE COESPECÍFICOS

Hassemer, M.J.<sup>1</sup>; Sant'Ana, J.<sup>2</sup>; Oliveira, M.W.M.<sup>3</sup>; Laumann, R.A.<sup>4</sup>; Borges, M.<sup>4</sup>; Blassioli-Moraes, M.C.<sup>5</sup>

Conhecido popularmente como “cascudinho-dos-aviários”, *Alphitobius diaperinus* é uma importante praga para a avicultura industrial. Larvas e adultos servem de alimento alternativo às aves e além disso podem ser veículos de agentes patogênicos. Atualmente, inseticidas são utilizados para o controle desta praga, porém estes apresentam baixa eficiência. Neste contexto, estudos relacionados a ecologia química podem gerar ferramentas para o manejo desta praga. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da secreção defensiva das glândulas abdominais de *A. diaperinus* sobre seu comportamento. Para isto, dez pares de glândulas foram imersos em 500 µL de hexano e extraídos durante 1 hora. Os extratos (sete/sexo) foram analisados quali e quantitativamente por CG-EM e CG-DIC (teste *t*) e as respostas eletrofisiológicas foram registradas através de CG-EAG. Ensaio comportamentais foram realizados em olfatômetro de quatro escolhas, onde fêmeas e machos (n= 40/sexo) foram avaliados por cinco minutos (ANOVA Friedman). No teste de arena, 50 fêmeas e 50 machos foram liberados no centro de uma bandeja retangular e submetidos a escolha (24 horas) entre os seguintes tratamentos situados nas extremidades da bandeja (n= 20/tratamento): 1) Hexano x Hexano; 2) Hexano x Feromônio e 3) Feromônio x Feromônio (GLM, com distribuição de Poisson e análise de contrastes). Foram identificados 23 compostos nas glândulas de *A. diaperinus*, não havendo diferenças quali e quantitativas entre os sexos. Destes, as quinonas 1,4-benzoquinona, 2-metil-1,4-benzoquinona e 2-etil-1,4-benzoquinona foram bioativas nas antenas dos insetos. Nos bioensaios em olfatometria tanto fêmeas quanto machos responderam de forma significativa para o controle ( $p < 0,05$ ) para ambos os extratos, evidenciando um comportamento de repelência. O mesmo padrão de resposta foi verificado nos testes com a solução sintética contendo os três compostos bioativos, porém, quando estes compostos foram testados em soluções binárias ou individualmente não houve diferenças significativas entre os tratamentos. No teste de arena, os insetos se mantiveram distantes das áreas tratadas com a solução sintética do feromônio de alarme. De acordo com os resultados obtidos, a utilização destas três quinonas pode ser uma ferramenta potencial para repelir os insetos dos seus esconderijos nos aviários.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

---

<sup>1</sup> Zoologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia, D.Sc., Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS

<sup>3</sup> Química, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Ecologia Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## CONTRIBUIÇÃO DAS FORMIGAS (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) NA PREDÇÃO DE OVOS DE LAGARTA EM SISTEMAS ORGÂNICO DE HORTALIÇAS

Frizzo, T.L.M.<sup>1</sup>; Sujii, E.R.<sup>2</sup>

Um dos principais desafios da ciência é produzir alimentos abrindo mão do uso de agroquímicos e/ou de plantas geneticamente modificadas. Para isto é necessário compreender os padrões de distribuição e abundância dos herbívoros, que está ligado simplificada a um modelo tri-trófico em que herbívoros precisam de plantas para se alimentar e por sua vez tem sua população regulada por predadores. Evidentemente este modelo é uma simplificação da realidade, mas o uso de predadores de insetos pragas já é um método efetivo para controle biológico, apesar das lacunas no conhecimento e potencial para aumentar a eficiência e eficácia deste processo. Baseado nisto, esse projeto tem o objetivo de identificar nos sistemas orgânicos de hortaliças, quais são as taxas de predação de ovos, geralmente a fase de vida mais susceptível dos insetos pragas. Para isto foram selecionadas 18 propriedades orgânicas, aonde em cada uma foram instaladas 60 estacas contendo ovos da lagarta *Anticarsia gemmatilis*. Um terço destas estacas foi projetado para capturar os eventuais predadores dos ovos, para isso, no alto da estaca foi instalado um pedaço de 3x5cm de fita adesiva amarela e um coletor universal preenchido com água, detergente e mel. O restante das estacas possuem duas cartelas de ovos cada, uma tratamento e uma controle (na qual o acesso de formigas é impedido por graxa branca). Ao todo foram instaladas 1.080 estacas que ficaram em campo por 24 horas. Após a contagem dos ovos predados foi identificado um efeito significativo da predação de ovos por formigas (teste-tpariado,  $gl=717$ ,  $p<0,001$ ). Enquanto nas cartelas controle (sem a presença de formiga) a predação foi de aproximadamente 13% dos ovos, nas cartelas do tratamento a taxa de predação foi o triplo (39%). Testes mostram que existe uma correlação significativa entre a predação ocorrida em cada propriedade e o número de ocorrência de formigas ( $t=2,6601$ ,  $gl=16$ ,  $p=0,01711$ ). Assim como, o total de predação ocorrida em cada propriedade orgânica, também está correlacionado com a quantidade de todos os predadores ( $t=2,8091$ ,  $gl=16$ ,  $p=0,0126$ ). Dentre os diferentes predadores, as formigas foram os mais comuns com 43% de ocorrência, seguidas pelos Staphylinidae (16%), Coccinellidae (11%), Dolichopodea (10%), Heteroponera (6%), Araneae (5%) e outros com (9%). Fica evidente assim, que as formigas são o principal predador de ovos nestas propriedades, apesar do desconhecimento por parte dos produtores sobre a importância deste grupo no controle biológico.

Apoio: Embrapa e CNPq.

---

<sup>1</sup> Ecologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## DIVERSIDADE DE ABELHAS EM CULTURA DE ABOBOREIRA *Cucurbita pepo* L. NO DISTRITO FEDERAL: INFLUÊNCIA DO SISTEMA DE PRODUÇÃO E DA PAISAGEM

Torezani, K.R.S.<sup>1</sup>; Laumann, R.A.<sup>2</sup>; Sujii, E.R.<sup>3</sup>; Pires, C.S.S.<sup>3</sup>

Dentre os insetos, as abelhas são consideradas os principais visitantes florais e agentes polinizadores da aboboreira *Cucurbita* spp. Os objetivos deste trabalho foram estudar a comunidade de abelhas visitantes florais de *Cucurbita pepo*, abobrinha italiana, nos sistemas de produção orgânico e convencional; e avaliar a influência da paisagem do entorno dos cultivos sobre a riqueza e abundância de abelhas. Os dados foram coletados em 2013 e 2014 em plantios comerciais de *C. pepo* em dez propriedades pareadas e localizadas no Distrito Federal, sendo cinco no sistema orgânico e cinco no convencional. Em 2013, foi realizada uma avaliação preliminar em cada propriedade e três amostragens foram conduzidas nos meses de julho a setembro entre as 09:00 h e 11:00 h. Na amostragem de 2014 o tamanho da área amostral foi padronizado nas propriedades demarcando-se uma área de 30 x 15 m, sendo dividida em seis parcelas de 15 x 2 m. Foram realizadas três amostragens entre os meses de julho a outubro no intervalo de 06:00 e 12:00 h, em seis períodos de 30 minutos distribuídos em intervalos de 1 hora. Em cada período, durante cinco minutos em cada parcela, as abelhas foram coletadas diretamente nas flores com auxílio de frascos plásticos. A caracterização da paisagem de cada propriedade foi feita a partir de imagens de satélite do Google Earth. Para estabelecer a área de influência (*buffer*) foi considerado um raio de 2 km e estabelecidas três categorias de acordo com a qualidade do habitat: vegetação nativa (VN), onde foram agrupadas as formações campestre, savânica e florestal; área antropizada de alta qualidade (A1): agrupamento de áreas de plantio de hortaliça, reflorestamento e área degradada em recuperação, e área antropizada de baixa qualidade (A2): plantio de monocultura, corpos d'água, área urbana, setor de chácaras e área de pastagem. O conjunto de dados foi exportado para o programa ArcGis 9.3 onde foram feitos os cálculos das áreas classificadas e a percentagem de cobertura de cada uma em relação a área total de influência. Nos dois anos foram coletados 3.879 indivíduos, distribuídos em duas famílias (Apidae e Halictidae), 23 gêneros e 35 espécies. As quatro espécies mais abundantes foram: *Apis mellifera*, *Trigona spinipes*, *Trigona hyalinata* e *Partamona combinata*. A abundância total de abelhas foi significativamente maior para o sistema orgânico em relação ao convencional (GLM e Análise de Deviança  $\chi^2=29.93$ , g.l=1,  $p<0.001$ ), porém a riqueza não diferiu entre os dois sistemas de produção. A presença de áreas com vegetação nativa no entorno dos cultivos de *C. pepo* tiveram uma influência positiva sobre a riqueza de abelhas ( $r^2=0.79$ ,  $p<0.01$ ). Portanto, o tipo de manejo influencia a abundância de abelhas em nível local, enquanto observou-se que a riqueza é influenciada pela paisagem do entorno dos cultivos em uma escala regional. Assim para favorecer a presença de polinizadores seria desejado optar por um manejo orgânico e manter a vegetação nativa no entorno das propriedades.

Apoio: Embrapa, UnB e Capes.

<sup>1</sup> Zoologia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Ecologia Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **DIVERSIDADE GENÉTICA DE GALINHA CAIPIRA (*Gallus gallus domesticus*) NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL**

Reis, E.C.<sup>1</sup>; Biazio, G.R.<sup>2</sup>; Albuquerque, M.S.M.<sup>3</sup>; Castro, S.T.R.<sup>4</sup>

A avaliação da diversidade e da relação genética de raças localmente adaptadas é um fator importante para a conservação de recursos genéticos. Este estudo teve como objetivo analisar a diversidade genética de quatro populações *Gallus gallus domesticus* a partir de amostras de DNA estoque, para pesquisa, do Laboratório de Genética Animal- LGA/Cenargen, incluindo 46 aves amostradas em 18 propriedades do Distrito Federal, 30 denominadas caipira e 16 índio; e duas populações externas, uma caipira do Maranhão (n=13) e outra, índio, do Paraná (n=17), recebidas nos anos de 2010 a 2012. Para a análise da diversidade genética, as amostras foram analisadas com 13 marcadores microssatélites recomendados pela FAO / ISAG. O número de alelos variou de 4 (população do Maranhão) a 6 (população do Distrito Federal), com uma média de 5 alelos por loco. A heterozigosidade observada dentro das populações variou entre 0,355 (pop do DF) e 0,427 (Pop do MA). O menor coeficiente de endogamia (f) foi encontrado em índio do DF (0,209) e o maior (0,509) na população caipira do DF, podendo-se inferir, pelo excesso de homozigotos, que há endogamia nas populações, o que contribui para a diminuição da variabilidade genética. Na análise de agrupamento Bayesiana utilizando o software STRUCTURE, o melhor valor de K indicou formação de duas populações: uma constituída por animais índio (DF e PR) e outra de caipiras (DF e MA). Os resultados indicam que há acasalamentos consanguíneos nas populações analisadas e que o índio apresenta-se como grupo genético distinto das aves denominadas caipiras.

---

<sup>1</sup> Biomedicina, graduação, Faculdade Anhanguera de Brasília-FAB

<sup>2</sup> Ciências Biológicas, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Melhoramento Animal, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biologia Animal, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **EFEITO DO MOMENTO DA APLICAÇÃO DO BENZOATO DE ESTRADIOL EM PROTOCOLOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM FÊMEAS DA RAÇA CURRALEIRO PÉ-DURO**

Santos, R.<sup>1</sup>; Tortorella, R.D.<sup>2</sup>; Teixeira, H.C.A.<sup>2</sup>; Ramos, A.F.<sup>3</sup>

O uso de animais localmente adaptados pode ser uma ferramenta de produção de carne com baixo investimento e de grande importância para a segurança alimentar. Para que isso possa acontecer, os parâmetros reprodutivos de animais dessas raças precisam ser melhor estudados. O objetivo deste trabalho foi caracterizar como o momento da aplicação do benzoato de estradiol (BE) influenciou na resposta folicular de fêmeas da raça Curraleiro Pé-Duro em um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Projeto aprovado pela CEUA 07/2013. No experimento, fêmeas (n=12) cíclicas, solteiras e com condição corporal média 3 (1-5), receberam um dispositivo intravaginal contendo 1g de progesterona (P4) durante oito dias e 2 mg de BE intramuscular (IM) no momento da inserção do dispositivo (dia 0). No dia da retirada do dispositivo (dia 8) todas as vacas receberam 150 µg de D-cloprostenol Sódico IM e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) IM. As fêmeas foram então separadas para receber 1 mg de BE IM no dia da retirada do dispositivo (BE0; n=6) ou 24 horas após (BE24; n=6). O crescimento folicular foi acompanhado a partir do dia 8 a cada 24 horas até o dia 10. A partir desse momento, o folículo dominante (FD) foi avaliado a cada seis horas até a identificação da ovulação ou 96 horas da retirada do dispositivo. Os tratamentos BE0 e BE24 foram eficientes em sincronizar 92% (11/12) e 83% (10/12) das fêmeas, respectivamente, sendo considerado o tratamento eficiente, na presença de FD maior que 8 mm após a retirada da P4. O momento da aplicação do BE (BE0 vs BE24) não teve efeito ( $P < 0,05$ ) no tamanho do folículo ovulatório ( $11,5 \pm 0,5$  mm vs  $12,2 \pm 0,5$  mm) e na taxa de ovulação (73%, 8/11 vs 100%, 10/10). O tempo para ovulação em relação à retirada da P4 foi menor no tratamento BE0 ( $58 \pm 2$  h vs  $73 \pm 3$  h;  $P < 0,05$ ), contudo o tratamento BE24 proporcionou maior sincronia das ovulações ( $P = 0,06$ ). Protocolos hormonais que possibilitam a maior sincronia da ovulação são vantajosos devido à possibilidade da escolha do melhor momento para a IATF. Ainda, o prolongamento do intervalo das ovulações leva a um maior desafio ao sêmen manter-se viável e apto a fecundar o ovócito. Neste contexto, é interessante o uso do tratamento BE24 em função da maior probabilidade de taxa de prenhez em um programa de IATF para as fêmeas da raça Curraleiro/Pé-Duro.

Apoio: CNPq, Embrapa e FAP-DF.

---

<sup>1</sup> Medicina Veterinária, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Ciências Animais, D.Sc., Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Conservação Rec. Genéticos Animais, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



## **EMERGÊNCIA FOLICULAR OVARIANA EM OVELHAS SUBMETIDAS A DIFERENTES DOSES DE 17 $\beta$ -ESTRADIOL ASSOCIADO À PROGESTERONA**

Brasil, O.O.<sup>1</sup>; Monteiro, S.S.<sup>2</sup>; Moreira, N.H.<sup>1</sup>; Ramos, A.F.<sup>3</sup>

Os protocolos de sincronia do estro e superovulação em ovinos apresentam resultados inconsistentes de sincronia da ovulação e rendimento embrionário principalmente devido a falta do controle da emergência da onda folicular durante o tratamento. Em bovinos, a associação de progesterona com estradiol sincroniza a emergência da onda folicular e reduz significativamente a variabilidade da sincronia do estro e dos protocolos de superovulação. Resultados do nosso grupo demonstraram que o uso de 17 $\beta$ -estradiol causa atresia do folículo dominante e recrutamento sincronizado de uma onda de crescimento folicular. O objetivo do trabalho foi avaliar diferentes doses de 17 $\beta$ -estradiol, associado à progesterona, sobre a dinâmica folicular em ovinos. Projeto aprovado pela CEUA 011/2015. Vinte e uma fêmeas foram sincronizadas com a inserção de um dispositivo intravaginal contendo 0,33 g de progesterona (CIDR®). As fêmeas foram divididas aleatoriamente em três grupos para receber diferentes doses de 17 $\beta$ -estradiol (E-17 $\beta$ ; im), 24 horas após a inserção do CIDR. Foram realizados exames ultrassonográficos por via transretal, utilizando um transdutor linear na frequência de 7,5MHz. As avaliações foram realizadas no momento da inserção do CIDR, 24 horas após e posteriormente a cada 12 horas, até o dia em que foi verificado a atresia dos folículos dominantes da nova onda emergente e recrutamento de uma segunda onda folicular. Durante cada exame, foram mensurados e desenhados em mapas os folículos e corpos lúteos. As seguintes características das ondas foliculares foram avaliadas para cada ovelha: (1) o tamanho do maior folículo no início do protocolo; (2) o dia que o folículo da onda recrutada atingiu 3 mm; (3) o máximo diâmetro atingido pelo maior folículo da onda recrutada; e; (4) a duração da onda recrutada. Para análise estatística, utilizou-se o programa R Core Team 2013. Não houve diferença entre as doses avaliadas em todos os parâmetros testados ( $P > 0,05$ ). As médias gerais foram  $4,83 \pm 1,05$  mm,  $3,14 \pm 1,01$  dias,  $4,49 \pm 0,51$  mm e  $3,36 \pm 0,71$  dias, para o tamanho do maior folículo no início do protocolo, o dia que o folículo da onda recrutada atingiu 3 mm, o máximo diâmetro atingido pelo maior folículo da onda recrutada e a duração da onda recrutada, respectivamente. Como todas as doses recrutaram uma nova onda folicular de forma sincronizada e com o mesmo padrão de desenvolvimento folicular, sugere-se a utilização da menor dose de 17 $\beta$ -estradiol, devido ao menor custo e a menor exposição hormonal. A utilização do 17 $\beta$ -estradiol é uma abordagem muito promissora para a melhoria dos protocolos de sincronização do estro e superovulação na espécie ovina.

Apoio: Embrapa, Capes e UnB.

---

<sup>1</sup> Medicina Veterinária, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Medicina Veterinária, graduação, Faculdade da União Educacional do Planalto Central

<sup>3</sup> Conservação Rec. Genéticos Animais, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **ESTRATÉGIAS PARA MELHORAR A SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO DE OVELHAS DESLANADAS, UTILIZANDO PROTOCOLOS COM CIDR**

Moreira, N.H.<sup>1</sup>; Brasil, O.O.<sup>1</sup>; Silva, P.C.P.<sup>2</sup>; Saavedra, C.A.P.B.<sup>3</sup>; Silva, J.P.<sup>4</sup>; Azevedo, H.C.<sup>5</sup>; Ianella, P.<sup>6</sup>; Ramos, A.F.<sup>7</sup>

A sincronização do estro associada à inseminação artificial é uma das importantes biotecnologias utilizadas na disseminação de material genético criopreservado. O padrão de resposta obtido após a sincronização do estro pode sofrer influências de diferentes fatores, como por exemplo, a raça, a dose e o momento de aplicação dos hormônios utilizados. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes doses e momentos de aplicação do hormônio gonadotrofina coriônica equina (eCG) sobre a fisiologia do ciclo estral de ovelhas deslanadas. Este trabalho foi aprovado pela CEUA 261/2015. Para isso, 40 ovelhas, do tipo Santa Inês, tiveram o estro sincronizado, através da inserção de um dispositivo intravaginal contendo 0,33 g de progesterona (Eazi-Breed CIDR®), que permaneceu por 12 dias. No dia da remoção do CIDR, as ovelhas foram divididas aleatoriamente em 4 grupos, para receber 300 UI ou 400 UI da eCG (Novormon®), 24 horas antes ou no momento da remoção do CIDR, seguindo um delineamento fatorial 2x2: 24h300UI; 24h400UI; 300UI e; 400UI. O estro foi avaliado com o auxílio de um rufião, em intervalos de 4 horas. A avaliação da dinâmica folicular e ovulação se iniciaram com 16 horas da detecção do estro e foi realizada a cada 6 horas, por meio de ultrassonografia transretal. Sete dias após a ovulação os corpos lúteos foram contados e mensurados. Para a análise estatística, utilizou-se o programa R Core Team 2013. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando  $P < 0,05$ . A média geral do estro foi de 35,25 horas e da ovulação foi de 61,70 horas. Não houve diferença estatística na média do início da manifestação do estro, no momento da ovulação, no número de folículos ovulados e no volume do maior corpo lúteo. Nos grupos 24h400UI e 400UI ocorreu um aumento no tamanho do maior folículo ovulatório ( $P < 0,05$ ), entretanto, isto não influenciou o volume do maior corpo lúteo. O grupo 24h400UI apresentou um maior volume da massa luteal ( $P < 0,05$ ) que pode estar associado a um aumento numérico no número de folículos ovulados, embora este último não tenha apresentado diferenças estatísticas em relação aos outros grupos. A dose de 400 UI de eCG e a aplicação deste hormônio, 24 horas antes do momento da remoção da P4, não alteraram o padrão do número de folículos ovulados, o que provavelmente não modificaria a prolificidade destes animais com os tratamentos estudados. Portanto, os resultados sugerem que a utilização de 300 UI de eCG aplicados no momento da remoção do CIDR é uma alternativa viável, por apresentar concentração hormonal e manejo reduzidos.

Apoio: Embrapa, Capes e UnB.

---

<sup>1</sup> Medicina Veterinária, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Medicina Veterinária, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Estatística, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Estatística, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Medicina veterinária, Ph.D., Embrapa Tabuleiros Costeiros

<sup>6</sup> Genômica Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup> Conservação Rec. Genéticos Animais, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## FATORES DE MORTALIDADE DE *Bemisia tabaci* EM SISTEMAS ORGÂNICOS E CONVENCIONAIS DE CULTIVO DE TOMATE

Santos, J.P.C.R.<sup>1</sup>; Souza, L.M.<sup>2</sup>; Pires, C.S.S.<sup>3</sup>; Sujii, E.R.<sup>3</sup>; Togni, P.H.B.<sup>4</sup>

A mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) é um importante herbívoro-praga polífago considerada praga-chave do tomateiro. Isso porque essa espécie é capaz de causar prejuízos severos a cultura devido aos danos diretos (sucção da seiva) e indiretos (transmissão de um complexo de viroses). Evidências recentes sugerem que os inimigos naturais de *B. tabaci* podem ser os principais fatores de mortalidade, contribuindo para o controle da praga em campo. O objetivo deste estudo foi comparar a mortalidade da fase imatura da mosca-branca entre os sistemas de cultivo orgânico e convencional de tomate em 13 propriedades agrícolas no Distrito Federal. Foram estabelecidos cortes verticais em 20 plantas de cada propriedade e observado os fatores de mortalidade (predação, parasitoidismo, desalojamento, entomopatógenos e desconhecidos) que agiram sobre as ninfas de mosca-branca durante o terceiro e quarto ínstar. As taxas de mortalidade para cada fator de mortalidade foram estimadas de forma independente, transformando a mortalidade aparente em taxas marginais de mortalidade. Foi avaliado se a taxa de mortalidade geral foi afetada pelo sistema de cultivo através do ajuste de um modelo linear generalizado (GLM). Os fatores chave de mortalidade foram quantitativamente identificados, onde o fator de mortalidade com maiores coeficientes de regressão foi considerado o fator chave de mortalidade. A mortalidade das moscas-brancas no sistema orgânico foi próximo ao dobro em relação ao convencional. A riqueza de espécies de inimigos naturais também foi maior em sistemas orgânicos do que nos convencionais. Os inimigos naturais mais abundantes capturados nas armadilhas amarelas foram *Stethorus* sp., *Condylostylus* sp., *Diomus seminulus*, *Allograpta* sp., *Orius insidiosus* e *Chrysoperla externa*. O cultivo de tomate em sistema orgânico beneficiou a conservação e a atuação de inimigos naturais da mosca-branca, resultando nas maiores taxas de mortalidade de suas ninfas.

Apoio: Embrapa e CNPq (PIBIC).

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, bolsista PIBIC/CNPq

<sup>2</sup> Entomologia, M.Sc., Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Entomologia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB/Universidade Paulista-UNIP

## **INFLUÊNCIA DE DOIS HOMOTERPENOS ACÍCLICOS NO COMPORTAMENTO DE FORRAGEAMENTO DE *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)**

Magalhães, D.M.<sup>1</sup>; Borges, M.<sup>2</sup>; Laumann, R.A.<sup>2</sup>; Woodcock, C.M.<sup>3</sup>; Pickett, J.A.<sup>3</sup>; Birkett, M.A.<sup>3</sup>; Blassioli-Moraes, M.C.<sup>4</sup>

O bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), é atraído tanto pelos voláteis constitutivos quanto pelos induzidos por herbivoria de coespecíficos que são emitidos por sua planta hospedeira, *Gossypium hirsutum* L. (Malvales: Malvaceae). Além disso, apresenta forte preferência pelos voláteis liberados quando os algodoeiros estão no estágio reprodutivo. Em algodoeiros da variedade Delta Opal a produção de homoterpenos acíclicos, (*E*)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno (DMNT) e (*E,E*)-4,8,12-trimetiltrideca-1,3,7,11-tetraeno (TMTT), é maior em plantas no estágio vegetativo que em plantas no reprodutivo, sendo esta a maior diferença encontrada no perfil químico de algodoeiros sem injúria. No presente trabalho, foi avaliado se esta diferença na produção destes dois homoterpenos acíclicos é um padrão que se mantém em outras variedades de algodão, bem como se o bicudo-do-algodoeiro consegue reconhecer estes compostos como indicadores de estágios fenológicos específicos em algodoeiros. Os resultados mostraram que as variedades de algodão TB-90, BRS-293 e Delta Opal produzem maiores níveis de DMNT e TMTT no estágio vegetativo. Os ensaios eletrofisiológicos confirmaram que as antenas do bicudo-do-algodoeiro possuem receptores que respondem aos compostos DMNT e TMTT. Os ensaios comportamentais, por sua vez, mostraram que a adição de uma mistura sintética contendo DMNT e TMTT a plantas de algodão no estágio reprodutivo (mímico de algodoeiro no estágio vegetativo quanto aos níveis de DMNT e TMTT), reduz a atratividade destas plantas para *A. grandis*. Além disso, o bicudo-do-algodoeiro não apresentou preferência quando foram contrastados os voláteis de algodoeiros no estágio vegetativo e do algodoeiro modificado (mímico no estágio vegetativo). Em suma, os resultados mostram que os compostos DMNT e TMTT podem ser usados por *A. grandis* como indicativos de estágios fenológicos específicos em algodoeiros.

Apoio: Embrapa, Capes, CNPq, FAP-DF e BBSRC-UK.

---

<sup>1</sup> Zoologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Ecologia Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Ecologia Química, Ph.D., Rothamsted Research

<sup>4</sup> Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**INFLUÊNCIA DE VOLÁTEIS DE DIFERENTES ESPÉCIES DE PLANTAS INDUZIDOS POR HERBIVORIA DO PERCEVEJO POLÍFAGO *Euschistus heros* NO COMPORTAMENTO DE FORRAGEAMENTO DO PARASITÓIDE DE OVOS *Telenomus podisi***

Laia, M.<sup>1</sup>; Dias, A.<sup>2</sup>; Pareja, M.F.<sup>3</sup>; Blassioli-Moraes, M.C.<sup>4</sup>; Borges, M.<sup>5</sup>; Laumann, R.A.<sup>5</sup>

Os voláteis de plantas induzidos por herbivoria ou VPIHs são compostos químicos liberados pelas plantas em resposta a injúrias de herbívoros que atraem inimigos naturais, sendo um dos principais mecanismos de defesa das plantas. O parasitóide *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae) é atraído por VPIHs de soja liberados após a herbivoria do percevejo marrom, *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). Como este percevejo é polífago a injúria em outras plantas hospedeiras poderia ter o mesmo efeito de indução de VPIHs registrado em soja. Este trabalho tem como objetivo estudar os efeitos da injúria de herbivoria por *E. heros* em três espécies diferentes de plantas: girassol, feijão guandu e milho. A hipótese a ser avaliada é que a injúria por *E. heros* induz a liberação de VPIHs em plantas de diferentes espécies e que o parasitóide *T. podisi* pode reconhecer e discriminar as plantas injuriadas das plantas que não sofreram ataque pelo percevejo. As plantas de cada espécie foram tratadas com três fêmeas virgens de *E. heros* permitindo a alimentação durante 72 horas (PH - plantas com herbivoria). As plantas controle (PC) foram mantidas sem insetos durante o mesmo período. Para testar o efeito dos voláteis das plantas de cada tratamento foram realizados bioensaios em olfatômetro de duas escolhas, tipo "Y", nas seguintes combinações : CP x ar, PH x ar, PH x PC. O parasitóide mostrou preferência pelos voláteis de plantas de milho com herbivoria quando contrastadas em relação ao ar. Os voláteis das PH das outras espécies avaliadas não atraíram o parasitóide em relação ao ar. Ao contrastar voláteis de PH com PC o parasitóide mostrou preferência pelos voláteis de PH de girassol e de milho. Os resultados sugerem que VPIHs de girassol e milho são um importante indicador da presença do herbívoro e podem servir como pistas no forrageamento do parasitóide *T. podisi*.

Apoio: Embrapa, CNPq e FAP-DF.

<sup>1</sup> Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia, M.Sc., Universidade Federal de Lavras-UFLA

<sup>3</sup> Biologia, Ph.D., Universidade de Campinas-Unicamp

<sup>4</sup> Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Ecologia Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**INFLUÊNCIA DO PARASITISMO POR *Hexacladia* sp. (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE) EM PARÂMETROS BIOLÓGICOS DO PERCEVEJO MARROM, *Euschistus heros* (FABRICIUS, 1798 (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)**

Sousa, V.S.<sup>1</sup>; Aquino, M.F.S.<sup>2</sup>; Laumann, R.A.<sup>3</sup>; Borges, M.<sup>3</sup>; Blassioli-Moraes, M.C.<sup>4</sup>; Sujii, E.R.<sup>5</sup>

*Euschistus heros* (Fabricius) é praga-chave nas lavouras de soja. Os percevejos são atacados por uma diversidade de inimigos naturais, entre os quais endoparasitas de percevejos adultos do gênero *Hexacladia*. Conhecer aspectos biológicos das relações hospedeiro-parasitóide é importante para verificar o efeito dessas relações na biologia do hospedeiro e avaliar o potencial do inimigo natural como agente de controle biológico. O objetivo do trabalho foi gerar conhecimentos científicos acerca de aspectos biológicos de *E. heros* quando parasitado por *Hexacladia* sp. Fêmeas de *E. heros*, com 12 dias na fase adulta (n=30), foram mantidas, em recipientes plásticos de 200 ml, com uma fêmea do parasitóide por um período de 24 horas. Após este período a fêmea do parasitóide foi retirada e um macho do percevejo, com a mesma idade da fêmea, foi introduzido no recipiente plástico. Como controle, um grupo de 30 fêmeas que não tiveram contato com os parasitóides (fêmeas não parasitadas) foram mantidas em similares condições às das fêmeas parasitadas. As fêmeas foram observadas diariamente até a sua morte, verificando o número de posturas e de ovos. As fêmeas não parasitadas sobreviveram por mais tempo ( $19,9 \pm 15,9$  dias após início do experimento) do que as fêmeas parasitadas ( $14,83 \pm 9,11$  dias após início do experimento) (Análise de sobrevivência método Kaplan Meier e teste de comparação de curvas de sobrevivência LogRankT=994,0 P <0,001). O parasitismo também influenciou a fecundidade das fêmeas já que as fêmeas parasitadas mostraram uma fecundidade total ( $40,83 \pm 36,21$  ovos) menor do que as fêmeas não parasitadas ( $116,76 \pm 112,09$  ovos) (Análise GLM z= -31,65 P < 0,001). Adicionalmente, a distribuição da fecundidade foi mais constante (maior quantidade de dias com oviposição) e homogênea (sem picos de oviposição) nas fêmeas não parasitadas. Os resultados demonstram que embora o parasitóide *Hexacladia* sp. não produza mortalidade imediata do hospedeiro o parasitismo afeta parâmetros biológicos dos percevejos que podem condicionar o crescimento de suas populações.

Apoio: Embrapa, CNPq e FAP-DF.

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Centro Universitário do Distrito Federal-UDF

<sup>2</sup> Ecologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Ecologia Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia,

<sup>4</sup> Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **O ÁCARO DAS GEMAS DO CACAUEIRO, *Aceria reyesi* (NUZZACI) - DINÂMICA POPULACIONAL EM DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO E EM ÁREAS NATURAIS EM RONDÔNIA**

Araújo, F.<sup>1</sup>; Ferragut, F.<sup>2</sup>; Silva, R.A.M.<sup>1</sup>, Trevisan, O.<sup>3</sup>, Benito, N.P.<sup>1</sup>, Navia, D.<sup>1</sup>

Danos severos de morte dos ramos terminais, vulgarmente chamados “emponteiramento”, foram observados em cacaueiros no estado de Rondônia, afetando seriamente o banco de germoplasma da CEPLAC e áreas de produção. Os danos têm sido atribuídos às infestações pelo ácaro das gemas do cacaueiro, *Aceria reyesi* (Nuzzaci) (Eriophyidae), cujas colônias se abrigam nas gemas e brotos. Danos mais severos têm sido observados em áreas onde os cacaueiros são cultivados sem sombreamento. Não se sabe se tais danos se devem a maiores densidades populacionais do ácaro nessas condições ou a outros fatores bióticos ou abióticos. Esse trabalho teve como objetivo comparar a abundância e dinâmica populacional de *A. reyesi* em cacaueiros em dois sistemas de cultivo- sombreado e não sombreado- e em áreas de ocorrência natural na mata, na estação experimental da CEPLAC, Ouro Preto do Oeste, Rondônia. Foram realizados levantamentos quinzenais, de setembro de 2012 a agosto de 2013. Em cada sistema de cultivo e na mata foram selecionados 10 cacaueiros, de cada um foram coletadas 10 gemas (1º estágio) da porção superior da copa (orientações N, S, L, V e eixo central). As gemas foram dissecadas e submetidas a um método de extração através de agitação em álcool 70%. Os ácaros de cada tratamento/coleta foram contados ao microscópio óptico (20x) em lâmina de Peters. As populações de *A. reyesi* foram mais numerosas nos sistemas de cultivo, onde observou-se uma variação nos níveis populacionais ao longo do ano. Na mata as populações foram constantes e relativamente baixas (10-396 ácaros/100 gemas). Em alguns meses as populações do cultivo não-sombreado foram mais elevadas que em outros, entretanto o maior pico populacional (1826 ácaros/ 100 gemas) foi observado no cultivo sombreado, no mês de julho. Portanto, não foi observada uma relação entre os níveis populacionais de ácaro e os maiores danos observados no campo. Também não foram observadas correlações significativas entre as populações dos ácaros e os fatores abióticos. Será importante investigar as respostas fisiológicas dos cacaueiros às infestações nos dois sistemas de cultivo. É possível que os severos danos nos cacaueiros nos cultivos não-sombreados estejam associados a condições de estresse dos mesmos.

Apoio: Embrapa Macroprograma 1 e CNPq.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup> Biologia, Instituto Agroforestal Mediterraneo, Universitat Politècnica de Valencia, Espanha

<sup>3</sup> Entomologia, Est. Experimental Com. Exec. Plano da Lavoura Cacaueira-CEPLAC

## PARASITÓIDES DE ADULTOS DE PERCEVEJOS PRAGAS DA SOJA NO DISTRITO FEDERAL: INCIDÊNCIA E COMPORTAMENTO

Aquino, M.F.S.<sup>1</sup>; Blassioli-Moraes, M.C.<sup>2</sup>; Borges, M.<sup>3</sup>; Laumann, R.A.<sup>3</sup>; Sujii, E.R.<sup>4</sup>

O conhecimento sobre o comportamento de busca de hospedeiro dos parasitóides de adultos de pentatomídeos praga da soja é relevante para desenvolver ferramentas de controle biológico de pragas. O objetivo deste trabalho foi identificar as espécies de parasitóides dos adultos de percevejo da soja com maior incidência e potencial como agentes de controle biológico. Adicionalmente, avaliar a relação entre incidência e preferência de hospedeiros de *Hexacladia* sp., a espécie mais frequentemente encontrada. Para o comportamento de busca e seleção de hospedeiros foi realizado um estudo com fêmeas dessa espécie. As amostragens foram realizadas durante o período reprodutivo de soja nas safras de 2012/2013 e 2013/2014 em áreas convencionais no Distrito Federal. As populações de percevejos foram monitoradas com rede entomológica em transectos situados a diferentes distâncias da área de vegetação nativa. Na segunda safra a área natural também foi inserida nas amostragens. O comportamento de busca do parasitóide foi avaliado em olfatômetro Y e utilizados soluções sintéticas de feromônios sexuais de *Euschistus heros* e *Nezara viridula* como tratamentos e n-hexano como controle. O comportamento foi observado durante dez minutos (N= 20 para cada tratamento). Foram coletados 1006 e 1092 percevejos na primeira e segunda safra respectivamente, sendo *E. heros* o mais abundante representando 91,62% e 92,77% do total de percevejos coletados em cada safra respectivamente. Ocorreram parasitóides das ordens Hymenoptera e Diptera, famílias Encyrtidae e Tachinidae respectivamente. Dos 26 percevejos parasitados na primeira safra, 24 (92%) foram *E. heros* e 2 (7%) *N. viridula*. Na segunda safra 33 percevejos foram parasitados, *E. heros* representou 90,91% dos insetos parasitados e *N. viridula*, *Thyanta perditor* e *Chinavia ubica* cada uma com 3,03% dos insetos parasitados. Adultos de *E. heros* foram parasitados por himenópteros (62,5% - safra 2012/2013; 46,67% - safra 2013/2014) e dípteros (37,5% e 53,33% em cada safra). O parasitóide mais encontrado foi *Hexacladia* sp. (49,15% dos insetos parasitados foram atacados por esta espécie). As fêmeas de *Hexacladia* sp. foram significativamente atraídas ( $\chi^2$  Wald  $p < 0,05$ ) pelo feromônio de *E. heros* em relação ao controle. Os resultados indicam que a espécie de parasitóide mais frequente em adultos de percevejos na região produtora do Distrito Federal é *Hexacladia* sp. o que tem relação com a maior abundância de seu hospedeiro *E. heros* e com a utilização específica do feromônio sexual desta espécie como pista quando o parasitóide procura hospedeiros.

Apoio: Capes, CNPq, FAP-DF e Embrapa.

<sup>1</sup> Ecologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Ecologia Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



## PROSPECÇÃO DE SEMIOQUÍMICOS E ESTUDOS COMPORTAMENTAIS DE INSETOS *Hypothenemus hampei* ASSOCIADOS A PLANTAS DE CAFÉ

Moraes, S.D.M.<sup>1</sup>; Blassioli-Moraes, M.C.<sup>2</sup>; Laumann, R.A.<sup>3</sup>; Meneguim, A.N.<sup>4</sup>; Borges, M.<sup>5</sup>

A broca do café, *Hypothenemus hampei* é uma das principais pragas da cultura do café em todo o mundo. Este inseto permanece a maior parte do seu ciclo de vida no interior das sementes, o que torna muito difícil seu controle através de inseticidas, microrganismos e outros métodos comumente utilizados para o controle de pragas. Das 115 espécies do gênero *Cooffea* já documentadas, nenhuma delas apresenta resistência natural contra esta praga. Assim sendo, é necessário desenvolver métodos alternativos de controle e monitoramento desta praga. Este trabalho tem como finalidade estudar a interação química entre *H. hampei* e os voláteis emitidos por frutos de café sadios e brocados. Para isto foram conduzidos bioensaios em olfatômetro de quatro escolhas e em olfatômetro em “Y”, com os voláteis emitidos por frutos de *Coffea arabica*. Foram contrastados os voláteis emitidos de frutos verdes *versus* ar e os voláteis emitidos dos frutos vermelhos (maduros) *versus* ar. Para avaliar o perfil químico dos voláteis liberados pelos frutos do café, frutos verdes e vermelhos foram submetidos à técnica de aeração forçada. Os voláteis foram coletados dos frutos sadios e danificados por fêmeas de *H. hampei* a cada 24 horas em adsorventes químicos. Os extratos contendo os voláteis foram analisados por CG-DIC e CG-EM. Os bioensaios em olfatometria de quatro escolhas mostraram que fêmeas preferem os voláteis dos frutos quando comparado ao ar (Teste de Friedman,  $p=0.03$ ), e quando contrastando voláteis dos frutos verdes de duas variedades e com ar, as fêmeas responderam preferencialmente aos voláteis do fruto verde (Teste de Friedman,  $p=0.01$ ). A análise química dos voláteis dos frutos mostrou que o fruto verde liberou maior quantidade de salicilato de metila ( $t = 282$ ;  $p<0,001$ ) comparado ao fruto vermelho. Quando os frutos foram submetidos a dano da broca os frutos verdes liberaram significativamente uma maior quantidade dos compostos DMNT ( $\chi^2 = 837,34$ ;  $p<0,001$ ),  $\alpha$ -farneseno ( $\chi^2 = 132,36$ ;  $p<0,001$ ), de um sesquiterpeno desconhecido ( $\chi^2 = 18,314$ ;  $p<0,001$ ), TMTT ( $\chi^2 = 438,3$ ;  $p<0,001$ ) e *trans*-nerolidol ( $\chi^2 = 16,323$ ;  $p=0.001$ ) comparado aos voláteis emitidos pelos frutos verdes sem dano e frutos vermelhos sem e com dano da broca. Para avaliar se os voláteis emitidos dos frutos com dano de herbivoria têm influência no comportamento de busca das fêmeas de *H. hampei* serão conduzidos bioensaios comparando frutos com herbivoria e frutos sadios.

Apoio: Cenargen, CNPq-PIBIC, Embrapa, IAPAR e FAP-DF.

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup> Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Ecologia Química, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Ciências Agrárias, doutorado, Pesquisador-II do Instituto Agrônomo do Paraná

<sup>5</sup> Entomologia Agrícola, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## PURIFICAÇÃO DE SEMIOQUÍMICOS 1,3 DIENOS UTILIZANDO PTAD

Freitas, D.S.<sup>1</sup>; Oliveira, M.W.M.<sup>2</sup>; Borges, M.<sup>3</sup>; Laumann, R.A.<sup>3</sup>; Blassioli-Moraes, M.C.<sup>4</sup>

A presença de isômeros nos semioquímicos de insetos e plantas é muito comum e estes são essenciais na interação entre emissores e receptores. A mudança de isomeria de um único componente de uma mistura de semioquímicos pode resultar em perda da sua ação. Um exemplo onde a isomeria é extremamente importante é o feromônio de agregação do coleóptero *Alphitobius diaperinus*, cascudinho dos aviários. A mistura feromonal da população brasileira é composta por seis componentes: (*R*)-limoneno, (*E*)- $\beta$ -ocimeno, 2-nonanona, (*S*)-linalool, (*R*)-dauceno e (*E*, *E*)- $\alpha$ -farneseno, sendo que 5 destes apresentam algum tipo de isomeria, e se qualquer um destes componentes tiver a isomeria alterada, o inseto não é atraído pelo feromônio de agregação. Levando em consideração a não disponibilidade de todos os compostos isomericamente puros no mercado, é necessário produzir alguns dos compostos em forma sintética no laboratório o que pode resultar em processos laboriosos e dispendiosos. Com isso a proposta desse trabalho foi encontrar métodos para obter facilmente e com menor custo, isômeros com alto grau de pureza. O (*E*)- $\beta$ -ocimeno e o zingibereno são semioquímicos que participam em diferentes interações entre organismos na natureza. Esses compostos são de difícil obtenção, tanto na fase de síntese quanto na etapa de purificação através de coluna de sílica gel. Ambos compostos são 1,3-dienos favorecendo a formação do complexo com o dienófilo 4-fenil-1,2,4, triazolona-3,5 (PTAD). A formação do complexo ocorre somente com o isômero com a face mais favorecida, no caso dos isômeros geométricos, preferencialmente com o isômero *trans*, assim é possível separar facilmente os isômeros em uma coluna de sílica gel. A uma mistura comercial de isômeros (*E*)- $\beta$ -ocimeno (50 mg) (Sigma Aldrich (30% *Z* e 70% *E*) em THF ou a uma mistura de sesquiterpenos obtida a partir da destilação do óleo essencial de gengibre com 15% de zingiberenol (350 mg) em THF, foi adicionado lentamente PTAD (4-fenil-1, 2,4-triazolina-3,5-diona) (50mg) em THF. A reação é instantânea, assim logo após a adição do PTAD foi realizado o encerramento da reação com adição de água, a extração do material do meio reacional, e a purificação de cada um dos compostos foi através de coluna de sílica gel. A hidrólise do PTAD foi realizada usando uma base forte (KOH) e purificado novamente usando coluna de sílica gel. A pureza de cada isômero de interesse foi analisada por CG-DIC e CG-EM. Foram obtidos das reações (*E*)- $\beta$ -ocimeno com 92% de pureza, e zingibereno com 98% de pureza, sendo que para ambos os casos a pureza isomérica foi de 100%. O método demonstrou ser bastante eficiente na separação de isômeros fornecendo os isômeros com rendimento geral da reação de 56% e alto grau de pureza.

Apoio: Embrapa/Cenargen e CNPq/UnB.

<sup>1</sup> Química, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Química, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Ecologia Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## RESISTÊNCIA DE DIFERENTES POPULAÇÕES DE *Spodoptera frugiperda* DE MILHO-BT ORIUNDAS DA BAHIA E DE GOIÁS ESTÃO CORRELACIONADAS À BAIXA EXPRESSÃO DE ALCALINO FOSFATASES (ALP)

Macedo, C.L.<sup>1</sup>; Martins, E.S.<sup>2</sup>; Queiroz, P.R.<sup>3</sup>; Praça, L.B.<sup>4</sup>; Soares, C.M.S.<sup>5</sup>; Eckstein, B.<sup>6</sup>; Santos, H.M.<sup>7</sup>; Grisi, I.<sup>8</sup>; Gómez, I.<sup>9</sup>; Soberon, M.<sup>9</sup>; Bravo, A.<sup>9</sup>; Monnerat, R.G.<sup>10</sup>

A utilização de plantas resistentes a insetos no controle de pragas agrícolas tem sido crescente na agricultura mundial. O uso indiscriminado e incorreto de plantas Bt exerce um forte efeito seletivo sobre populações de insetos e pode acelerar a evolução da resistência em populações de pragas-alvo. O mecanismo de ação de *Bacillus thuringiensis* envolve vários passos e um deles é o reconhecimento da toxina Cry pelos receptores presentes na superfície do intestino médio (BBMV) como aminopeptidase-N (APN1) e alcalino fosfatase (ALP). Foram feitas avaliações da detecção da atividade de ALP e APN de seis populações brasileiras de *Spodoptera frugiperda* coletadas em campo, nos Estados da Bahia e de Goiás, e comparadas com a colônia susceptível de *S. frugiperda*, proveniente da criação massal da Embrapa, nomeada SfLab. Esta criação de insetos foi implementada em 1988 e os insetos nunca foram expostos às toxinas Bt. A detecção da presença de receptores do intestino médio de larvas de *S. frugiperda* (BBMV) foi analisada através da determinação da atividade específica de ALP e APN, por SDS-PAGE utilizando substrato para detecção da atividade, e também por western-blot com anticorpos de ALP e APN de *Manduca sexta* (Lepidoptera). Foi observado que os níveis de ALP foram baixos em todas as populações resistentes analisadas, o que indica baixa atividade deste receptor quando comparada ao da população susceptível, demonstrando que a resistência dos insetos destas populações brasileiras pode estar envolvida com os receptores de ALP, mas não com APN.

---

<sup>1</sup> Biologia Microbiana, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Molecular, Pesq. Visitante, Instituto Mato-Grossense do Algodão – IMAmt, Cuiabá - MT/CESP-Promove de Brasília Brasília, DF

<sup>3</sup> Biologia Molecular, Pesq. Visitante, Universidade de Brasília-UnB, Instituto Mato-Grossense do Algodão – IMAmt, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>4</sup> Agronomia, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Agronomia, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão – IMAmt, Cuiabá

<sup>6</sup> Fitopatologia, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup> Administração, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>8</sup> Medicina Veterinária, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>9</sup> Biologia, Ph.D., Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca – Morelos

<sup>10</sup> Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## VARIABILIDADE GENÉTICA E FILOGEOGRAFIA MOLECULAR DE POPULAÇÕES DO ÁCARO VERMELHO DAS PALMEIRAS

Rosa, N.D.<sup>1</sup>; Mendonça, R.S.<sup>2</sup>; Gondin Jr., M.G.C.<sup>3</sup>; Oliveira, D.C.<sup>4</sup>; Castro, T.M.M.G.<sup>5</sup>; Moraes, G.J.<sup>6</sup>; Navia, D.<sup>7</sup>

O ácaro vermelho das palmeiras, *Raoiella indica* Hirst (Tenuipalpidae), é uma praga invasora importante que se espalhou rapidamente pelas Américas após o seu primeiro relato em 2004 em Martinica. Foi descrito na Índia e sua presença esteve restrita por muitos anos a países do Hemisfério Oriental. As populações de *R. indica* atingem densidades elevadas no campo e causam danos graves aos seus hospedeiros. Nas áreas invadidas *R. indica* ampliou sua gama de hospedeiros e passou a infestar diversas famílias de monocotiledôneas, sendo a maioria Arecaceae. Este ácaro invasor representa uma séria ameaça aos agroecossistemas e áreas naturais do Brasil, onde sua distribuição está restrita a Roraima e Amazonas, desde sua primeira detecção em 2009. Esforços estão sendo direcionados para a definição de estratégias de controle dessa praga, incluindo o controle biológico clássico. Nesse contexto, informações sobre a variabilidade genética da praga e suas áreas de ocorrência, bem como a região de origem da invasão são relevantes e podem orientar a prospecção de inimigos naturais. O objetivo deste trabalho foi investigar a variabilidade genética e filogeografia de *R. indica* a partir de populações das Américas (Brasil-Roraima e Amazonas, Colômbia, Dominica, Martinica e Trinidad & Tobago), África (Ilha da Reunião), Oriente Médio (Oman) e Ásia (Malásia e Sri Lanka – Lunuwila e Weligama). Em 2015, diante da suspeita de dispersão de *R. indica* para outras regiões do Brasil, foram incluídas amostras de outros Estados do país. Foram produzidas sequências de dois fragmentos do gene citocromo c oxidase subunidade I (COI) (690 pb e 400 pb) (mtDNA) e da subunidade d1-d3 do gene 28S (950 pb) (rDNA). Foram incluídas nas análises filogenéticas sequências COI e d1-d3 recuperadas do GenBank de 20 populações do Caribe (Santa Lúcia, Trinidad e Tobago, Porto Rico e Dominica), América do Sul (Venezuela), América do Norte (EUA), Oriente Médio (Emirados Árabes e Irã) e Ásia (Filipinas e Índia). De acordo com a filogenia as populações do Brasil agruparam-se com aquelas da América do Sul, Caribe e Ilha da Reunião, enquanto que as populações do Oriente Médio e da Ásia formaram clados distintos. As populações das Américas possuem um haplótipo predominante idêntico ao da Ilha da Reunião. A inclusão de novas populações de *R. indica* possibilitou uma melhor elucidação dos padrões filogeográficos desse ácaro invasor, mas será importante execução de amostragens adicionais para a construção de uma filogenia mais sólida e para orientar os estudos com inimigos naturais.

Apoio: Embrapa.

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Faculdade Anhanguera de Brasília-FAB

<sup>2</sup> Entomologia, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/FUNAPE

<sup>3</sup> Entomologia, D.Sc., Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE

<sup>4</sup> Entomologia, Ph.D., Embrapa Roraima, Boa Vista, RR

<sup>5</sup> Entomologia, Ph.D., Universidade Estadual de Roraima, Campus de Rorainópolis

<sup>6</sup> Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-ESALQ

<sup>7</sup> Entomologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **Reprodução Animal**

## **ALTERAÇÕES PLACENTÁRIAS E DE CORDÃO UMBILICAL ASSOCIADAS COM VIABILIDADE NEONATAL EM BEZERROS CLONES**

Silveira, M.M.<sup>1</sup>; Bayão, H.<sup>2</sup>; Borges, N.A.<sup>1</sup>; Mendonça, A.S.<sup>1</sup>; Rumpf, R.<sup>2</sup>; Franco, M.M.<sup>3</sup>

As técnicas de reprodução assistida como a produção *in vitro* de embriões e a clonagem por transferência nuclear de células somáticas (TNCS) contribuem significativamente com os programas de melhoramento animal e o Brasil detém a maior produção de embriões bovinos produzidos *in vitro* no mundo. A produção de animais viáveis pela TNCS difundiu-se significativamente e a espécie bovina é a que apresenta maior sucesso na clonagem, mas a técnica ainda está associada a uma alta incidência de anomalias placentárias e consequentemente patologias e perdas fetais. Objetivou-se associar anormalidades na placenta e cordão umbilical com a viabilidade neonatal, até 48 horas, de bezerros clones. Foram acompanhados os nascimentos de vinte e quatro bezerros clones da raça Nelore na empresa Geneal Genética e Biotecnologia Animal em Uberaba-MG. Para a produção dos embriões, os ovócitos foram provenientes de abatedouro e a transferência nuclear foi realizada utilizando fibroblastos de pele. Todos os partos foram realizados por cesariana após indução. Avaliou-se os placentomas quanto ao tamanho e distribuição, a presença ou ausência de edema na placenta, a coloração do líquido amniótico e a espessura do cordão umbilical. Do grupo de bezerros que não sobreviveu além das primeiras 48 horas (58,3%): 92,8% tinham cordão umbilical grosso; 78,6% apresentaram edema de placenta; 64,3% apresentaram placentomas grandes e mal distribuídos e 57,1% apresentaram coloração anormal do líquido amniótico - tingido de mecônio. Os dados foram analisados segundo o teste binomial para duas proporções e houve uma maior incidência de edema placentário ( $p < 0,01$ ), coloração anormal do líquido amniótico ( $p < 0,01$ ), cordão umbilical grosso ( $p < 0,05$ ), placentomas grandes e mal distribuídos ( $p < 0,09$ ) nos bezerros não viáveis comparados com os viáveis. Conclui-se que as alterações placentárias e do cordão umbilical acarretam em maior mortalidade neonatal de bezerros clones. Há um consenso na literatura de que existe uma alta incidência de alterações placentárias em gestações de clones e que isso pode estar relacionado a uma incorreta reprogramação epigenética durante a fase do desenvolvimento embrionário inicial. Os dados gerados neste trabalho contribuem para um melhor entendimento sobre quais são as principais alterações placentárias que ocorrem nas gestações de clones, fornecendo subsídios para avaliações moleculares mais detalhadas e precisas na busca das causas primárias associadas a essas alterações.

Apoio: Cenargen, Geneal, CNPq e UFU.

---

<sup>1</sup> Genética e Bioquímica, doutorado, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

<sup>2</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Geneal Genética e Biotecnologia Animal

<sup>3</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **CAPACIDADE DO ESPERMATOZÓIDE DO EPIDÍDIMO DE SE LIGAR A AGREGADOS DE CÉLULAS DA TUBA UTERINA**

Cunha, A.T.M.<sup>1</sup>; Carvalho Neto, J.O.<sup>2</sup>; Dode, M.A.N.<sup>3</sup>

A recuperação de espermatozóides do epidídimo e seu uso em tecnologias de reprodução assistida tem um importante papel na multiplicação do material genético de touros que morrem repentinamente e/ou adquirem doenças reprodutivas. Entretanto, para estabelecer um procedimento apropriado para o uso desses espermatozóides, um melhor conhecimento a respeito do seu comportamento fisiológico frente à eventos envolvidos no processo de fecundação, tais como a formação do reservatório de espermatozóides, é necessário. Assim sendo, o objetivo desse estudo foi avaliar a habilidade do espermatozoide do epidídimo de se ligar à agregados de células do oviduto. Além disso, nós avaliamos se a adição de plasma seminal (PS) poderia melhorar a capacidade de ligação dos espermatozóides do epidídimo. Espermatozóides do ejaculado (EJ) e do epidídimo (EP) de sete touros da raça Gir foram coletados e criopreservados. Em cada manipulação uma palheta de cada grupo/touro foi descongelada, sendo o EP separado em duas frações. Uma das frações foi incubada com PS (pool de 3 diferentes touros) por 10 min a 37 °C (grupo EPP). Então, espermatozóides dos grupos EJ, EP e EPP foram incubados com agregados de células do oviduto por 30 min, 6 h e 24 h. Para cada momento de avaliação, aproximadamente 70 agregados por grupo/momento foram utilizados. Após a incubação, duas imagens de cada complexo agregados/espermatozóides foram capturadas utilizando Zeiss Axiophot e AxioCam. O perímetro dos agregados e o número de espermatozóides ligados à periferia de cada agregado foi contado, e então foi calculado o número de espermatozóides ligados por perímetro de mm de cada agregado. Uma replica por touro/grupo foi utilizada, sendo o touro considerado uma replica. Todos os procedimentos que utilizaram animais foram aprovados pelo comitê de ética Embrapa Cenargen (Protocolo CEUA – Cenargen 004/2013). Os dados foram analisados usando Kruskal Wallis ou Mann Whitney no software Prophet (média±SD; P<0,05). O número de espermatozóides ligados por mm de agregado foi similar para os grupos EJ, EP e EPP a 30 min (94,9±27,9; 82,1±22,5; 88,2±19,5), 6h (50,0±15,3; 75,9±21,4; 99,6±41,5) e 24h (12,0±2,6; 13,9±2,9; 16,5±6,3), respectivamente. Além disso, nós também avaliamos dentro de cada grupo, a capacidade dos espermatozóides se ligarem aos agregados. Foi possível identificar que os grupos EP e EPP apresentaram baixo número de espermatozóides ligados após 24h (13,9±2,9; 16,5±6,3), que após 30 min (82,1±22,5; 88,4±19,5) ou 6h (75,9±21,4; 99,6±41,5), respectivamente. Para o grupo EJ, às 6h (50,7±15,3) de incubação, o número de espermatozóides por mm de agregados foi similar para 30 min (94,1±27,9) ou 24 h (12,0±2,6), com diferenças entre o número de espermatozóides ligados entre 30 min e 24h. Nós concluímos que os espermatozóides do epidídimo com ou sem PS apresentaram habilidade similar à ligação aos agregados quando comparados aos espermatozóides do ejaculado. No entanto, nós também identificamos que os espermatozóides do epidídimo se mantêm ligados aos agregados por um longo período, quando comparados aos espermatozóides do ejaculado.

Apoio: CNPq (Processo 474607/2013-5), Capes e Embrapa.

<sup>1</sup> Biologia Animal, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Medicina Veterinária, pós-doutorado, Universidade de São Paulo-USP, bolsista FAPESP

<sup>3</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## CARACTERIZAÇÃO DO PADRÃO DE METILAÇÃO DO GENE IMPRINTED IGF2 EM OVÓCITOS DURANTE A FOLICULOGÊNESE BOVINA

Mendonça, A.S.<sup>1</sup>; Guimarães, A.L.S.<sup>2</sup>; Silva, N.M.A.<sup>3</sup>; Caetano, A.R.<sup>4</sup>; Dode, M.A.N.<sup>5</sup>; Franco, M.M.<sup>5</sup>

Uma amplareprogramação epigenética ocorre durante a gametogênese e a embriogênese nos mamíferos, nas quais são estabelecidos padrões sexo-específicos de metilação do DNA em ilhas CpG controladoras de genes *imprinted*. A caracterização da dinâmica de metilação do DNA desses genes adquirida pelos ovócitos durante a foliculogênese é essencial para compreender aspectos fisiológicos e genéticos da gametogênese feminina e para determinar parâmetros para a competência do ovócito, o que pode contribuir para a melhoria da produção *in vitro* de embriões (PIVE). Genes *imprinted*, tais como o *insulin-like growth factor 2* (IGF2), desempenham um papel importante no desenvolvimento embrionário, placentação e crescimento fetal. O objetivo deste estudo foi caracterizar o perfil de metilação do DNA da ilha CpG localizada no éxon 10 do gene IGF2 de ovócitos durante a foliculogênese bovina. O DNA de ovócitos de folículos primordiais, secundários finais, antrais pequenos (1-3mm) e grandes ( $\geq 6$ mm), ovócitos MII e espermatozóides foi extraído e tratado com bissulfato de sódio utilizando o kit *EZ DNA Methylation* (ZYMO). Após a amplificação do gene IGF2 por PCR, os amplicons foram clonados em células DH5 $\alpha$ , que tiveram seus plasmídeos extraídos e sequenciados. As sequências foram comparadas com as depositadas no *GenBank* e as que tiveram o mínimo de 95% de conversão e homologia foram utilizadas para as análises. As porcentagens de metilação encontrados para ovócitos de folículos primordiais, secundários finais, antrais pequenos, antrais grandes, ovócitos MII e espermatozóides foram  $73,74 \pm 2,88\%$ ,  $58,70 \pm 7,46\%$ ,  $56,00 \pm 5,58\%$ ,  $65,77 \pm 5,10\%$ ,  $56,35 \pm 7,45\%$  e  $96,04\% \pm 0,78\%$ , respectivamente. Ovócitos de folículos primordiais apresentaram menos alelos hipometilados (15,5%) do que os ovócitos MII (34,6%) ( $p=0,039$ ); espermatozóides mostraram apenas alelos hipermetilados. Além disso, os ovócitos MII mostram-se menos metilados do que espermatozóides ( $p<0,001$ ). Os resultados mostraram que esta região tem um padrão *imprinted* clássico em espermatozóides, que é totalmente metilado, e variável em ovócitos maturados, mostrando alelos hiper e hipometilados. Além disso, os resultados sugerem que esta ilha CpG pode ter recebido uma reprogramação precoce, considerando o padrão hipermetilado já encontrado em ovócitos de folículos primordiais. Estes resultados podem contribuir para uma melhor compreensão da reprogramação de metilação de DNA de genes *imprinted* durante a ovogênese bovina.

Apoio: Cenargen, Capes e UFU.

<sup>1</sup> Genética e Bioquímica, doutorado, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

<sup>2</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Genética Animal, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Genética Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



## CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO DE EMBRIÕES SUÍNOS DA RAÇA PIAU

Carvalho Neto, J.O.<sup>1</sup>; Sprícigo, J.F.W.<sup>2</sup>; Silva, L.P.<sup>3</sup>; Leme, L.O.<sup>4</sup>; Silva, B.D.M.<sup>5</sup>; Ramos, A.F.<sup>5</sup>; Dode, M.A.N.<sup>5</sup>

As raças localmente adaptadas de suínos adaptaram-se as condições de clima e manejo. Entre elas, a raça Piau possui é amplamente utilização em pequenas propriedades, para produção de carne e banha. Entretanto, esta raça está em constante diminuição de sua população, devido a cruzamentos absorventes com raças mais precoces e rentáveis economicamente. Entretanto, com a entrada da genômica atual, se torna realizada a possibilidade da descoberta de genes relacionados à características de interesse econômico, presentes nestas raças. Desta forma, é de grande importância a manutenção deste recurso genético, assim como a caracterização do material a ser conservado. Portanto o objetivo deste estudo foi realizar a caracterização do perfil lipídico de embriões suínos da raça Piau. Para isto 4marrãs da raça Piau tiveram o estro observado diariamente, duas vezes ao dia, e foram acasaladas por monta natural 12 e 24 horas após a detecção de estro. Seis dias após a monta, foi realizada a coleta dos embriões por laparotomia. Os embriões (blastocisto expandido, grau 1 de qualidade; n=8) foram armazenados em metanol, à -80°C. Para a determinação do perfil dos fosfolipídeos, os espectros foram obtidos por meio de espectrometria de massa MALDI-TOF. Os espectros de massa foram adquiridos na frequência entre 700-90  $m/z$ , no modo positivo/refletido em um espectrômetro de massa AutoFlexSpeed MALDI-TOF/TOF (BrukerDaltonics, Alemanha). Para a ionização cada embrião, foi depositado individualmente em um poço da placa de MALDI, e coberto com uma matriz de ácido 2,5-di-hidroxibenzóico (DHB). Todo o procedimento com as porcas foi aprovados pelo CEUA (150682/2012) Foram identificados 16 lipídeos. Entre os fosfolipídeos encontrados, as fosfatidilcolinas [PC(32:0) + H]<sup>+</sup>, [PC(34:1) + H]<sup>+</sup> e [PC(36:4) + H]<sup>+</sup>, representadas pelos os íons 734,5; 760,5 e 782,5  $m/z$  se destacaram pela alta intensidade. Também foram identificados alguns triglicerídeos, o PPL (50:2) + Na<sup>+</sup>, PPO (50:1) + Na<sup>+</sup>, PLO (52:3) + Na<sup>+</sup> e o POO (52:2) + Na<sup>+</sup>, representados pelos íons 753,5; 755,7; 879,7 e 881,6  $m/z$ . O perfil lipídico encontrado assemelha-se aos espectros de embriões de bovinos e ovócitos humanos (Ferreira et al Journal of Lipid Research, v.51, p. 1218-1227, 2010). Já o perfil de triglicerídeos observados, são semelhantes ao de ovócitos bovinos. Assim como ovócitos bovinos, os embriões suínos apresentam baixa resistência a criopreservação. Estes resultados caracterizam o perfil lipídico de embriões suínos da raça Piau. Um melhor entendimento dos lipídeos encontrados e correlacionar-los com a criopreservação é imprescindível para a otimização da criopreservação de embriões Piau, processo esse fundamental para a conservação deste material genético.

Apoio: CNPq e FAP-DF.

<sup>1</sup> Medicina Veterinária, pós-doutorado, Universidade de São Paulo-USP, bolsista FAPESP

<sup>2</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Biologia Animal e Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Ciências Animais, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup> Medicina Veterinária, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## DESENVOLVIMENTO DE UM TESTE MOLECULAR BASEADO NA AMPLIFICAÇÃO DO DNA MITOCONDRIAL POR PCR MULTIPLEX PARA IDENTIFICAÇÃO DE MUARES E BARDOTOS

Silva, T.C.F.<sup>1</sup>; Santos, J.B.F.<sup>2</sup>; Mendonça, A.S.<sup>3</sup>; Teixeira, A.B.S.<sup>4</sup>; Caetano, A.R.<sup>5</sup>; Silva, N.M.A.<sup>6</sup>; Antunes, R.C.<sup>7</sup>; Franco, M.M.<sup>8</sup>

Os muares são animais híbridos, sendo que a mulas/burros são originados do cruzamento de jumento (asinino) com uma égua (equino). Já o bardoto é originado do cruzamento de um cavalo (equino) com uma jumenta (asinino). Diferentemente do DNA nuclear, o DNA mitocondrial (mtDNA) possui a característica de ser uma herança apenas materna. Com o intuito de obter uma técnica que possa ser utilizada para fornecer informações confiáveis para criadores e compradores sobre a origem dos híbridos, objetivou-se com este trabalho desenvolver um teste para a identificação da origem do mtDNA (asinino ou equino) baseado em PCR *multiplex* para determinar de forma rápida e precisa se o animal é um mular ou bardoto. A região D-loop do DNA mitocondrial foi escolhida para o ensaio, e três *primers* específicos para a identificação da origem do DNA mitocondrial, asinino ou equino, foram desenhados e otimizados para amplificação em uma só reação de PCR. O DNA de sangue foi extraído de 12 jumentos, 10 bardotos e 18 muares utilizando o kit *DNeasy Blood and Tissue* (Qiagen). Os *primers* utilizados foram: 5'-CTGGCATCTGGTTCTTTCTT-3' (anela em ambos os genomas); equino 5'-GGTTTGGCAAGATTGTGTTG-3' e asinino 5'-GTGTGTGAGAGTTAGGCTTC-3'. Foram utilizados nas reações de PCR 7,5pmoles de cada *primer*, 50ng de DNA, 1U de TAQ Platinum (Invitrogen), 1X de tampão, 0,8mM de dNTP e 1,25mM de MgCl<sub>2</sub>. As condições de termociclagem foram 95°C por 3 minutos, 38 ciclos de 95°C por 30 segundos, 63°C por 30 segundos e 72°C por um minuto, e 72°C por 10 minutos. Foi detectado um amplicon de 620 pb referente ao mtDNA da espécie equina e um de 689 pb referente à espécie asinina quando a amostra em questão era proveniente de uma mula ou de uma bardota, respectivamente. Os produtos de PCR foram purificados do gel de agarose utilizando o kit *Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System* (Promega) e sequenciados, comprovando a origem equina ou asinina do DNA amplificado. Os resultados mostraram que a identificação do mtDNA, utilizando esta combinação de *primers*, é um teste rápido e eficaz para a distinção entre burro/mula e bardoto/bardota, podendo ser utilizado para a identificação da origem destes animais no contexto da pesquisa científica e/ou disponibilizado a criadores e associação de raças.

Apoio: Embrapa.

<sup>1</sup> Medicina Veterinária, graduação, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

<sup>2</sup> Ciências Veterinárias, doutorado, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

<sup>3</sup> Genética e Bioquímica, doutorado, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

<sup>4</sup> Medicina Veterinária, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup> Genética Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup> Genética Animal, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup> Produção Animal, Ph.D., Universidade Federal de Uberlândia-UFU

<sup>8</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **EFEITO DA CRIOPRESERVAÇÃO NA VIABILIDADE E LONGEVIDADE DE ESPERMATOZÓIDES DO EPIDÍDIMO DE TOUROS EXPOSTOS OU NÃO AO PLASMA SEMINAL**

Cunha, A.T.M.<sup>1</sup>; Carvalho Neto, J.O.<sup>2</sup>; Dode, M.A.N.<sup>3</sup>

A recuperação de espermatozóides epididimários, sua criopreservação e seu uso em técnicas de reprodução assistida, é uma ferramenta importante para a multiplicação de material genético de animais que morrem subitamente, ou que apresentam incapacidade reprodutiva adquirida. Entretanto, para que se possa maximizar o seu uso in vivo e in vitro, um melhor conhecimento sobre o comportamento fisiológico destes espermatozóides é necessário. O objetivo deste estudo foi caracterizar a viabilidade e longevidade de espermatozóides criopreservados da cauda do epidídimo por um período de 24 h. Espermatozóides do ejaculado (EJ) e do epidídimo (EP) foram coletados dos mesmos animais da raça Gir (n=7) e, posteriormente criopreservados. Três grupos foram comparados: espermatozóides do ejaculado (EJ), espermatozóides do epidídimo (EP) e, espermatozóides do epidídimo expostos, após descongelamento, a um pool de plasma seminal por 10 min a 39 °C (EPP). Espermatozóides dos três grupos foram selecionados em gradiente de Percoll 45:90% e incubados a 39 °C por 24 h, em meio SP-TALP na concentração de  $2 \times 10^6$  espermatozóides/ml. Amostras dos três grupos (EJ, EP e EPP) foram retiradas às 0, 3, 6 e 24 h de incubação e avaliadas quanto à motilidade total (MT) e progressiva [(MP) (CASA)], morfologia (contraste de fase), capacitação espermática (hidroclorido de clortetraciclina-CTC), integridade de membrana plasmática [(IMP) (diacetato de 6-carboxifluoresceína e iodeto de propídio-FDA-IP)] e integridade acrossomal [(IA) (isotiocianato de fluoresceína conjugado à lecitina de amendoim e iodeto de propídio-PNA-FITC-IP)]. Todos os procedimentos que utilizaram animais foram aprovados pelo comitê de ética Embrapa Cenargen (Protocolo CEUA – Cenargen 004/2013). Os dados foram analisados usando procedimento GLIMMIX do programa SAS ( $P \leq 0,05$ ). Com o decorrer dos momentos de incubação, todos os grupos apresentaram queda gradual nos parâmetros avaliados. Às 6 h de incubação o grupo EJ apresentou maior queda na MT ( $33,9 \pm 8,8$ ), MP ( $23,3 \pm 8,1$ ), IMP ( $16,4 \pm 3,4$ ), IA ( $19,9 \pm 3,2$ ), e porcentagem de espermatozóides não capacitados ( $70,3 \pm 3,7$ ) em relação aos grupos EP e EPP. Os grupos EP e EPP, às 6 h apresentaram MT ( $56,7 \pm 9,3$  e  $40,6 \pm 9,2$ ), MP ( $47 \pm 9,6$  e  $35 \pm 9,2$ ), IMP ( $29 \pm 4,3$  e  $28,2 \pm 4,2$ ), IA ( $31,6 \pm 3,8$  e  $31,6 \pm 3,8$ ), e porcentagem de espermatozóides não capacitados ( $80,9 \pm 3,5$  e  $81 \pm 3,5$ ) semelhantes àsquelas observadas às 0 h. Já as 24 h de incubação, todos os grupos foram semelhantes quanto à MT (EJ  $0,5 \pm 1,4$ , EP  $9,8 \pm 5,7$ , EPP  $10,6 \pm 5,9$ ), MP (EJ  $0,4 \pm 1,3$ , EP  $6,5 \pm 4,9$  e EPP  $8,2 \pm 5,5$ ), IMP (EJ  $6,7 \pm 2,3$ , EP  $10,3 \pm 2,8$  e EPP  $10,7 \pm 2,8$ ) e IA (EJ  $7,1 \pm 2$ , EP  $10,3 \pm 2,4$  EPP  $11, 1 \pm 2,5$ ). Entretanto a quantidade de espermatozóides não capacitados foi menor no grupo EJ ( $68 \pm 4,6$ ) quando comparado aos grupos EP ( $76 \pm 3,8$ ) e EPP ( $80,5 \pm 3,5$ ). Pode-se concluir que após o descongelamento, os espermatozóides do epidídimo mantiveram por mais tempo a sua qualidade, mostrando serem mais resistentes, do que os do ejaculado. Além disto, a adição do plasma seminal não afetou a viabilidade e/ou longevidade destes espermatozóides.

Apoio: CNPq (Processo: 474607/2013-5), Capes e Embrapa.

<sup>1</sup> Biologia Animal, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Medicina Veterinária, pós-doutorado, Universidade de São Paulo-USP, bolsista da FAPESP

<sup>3</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **EFEITO DA FONTE PROTÉICA DURANTE O CULTIVO NA RESPOSTA DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO AO CONGELAMENTO LENTO**

Sena-Netto, S.B.<sup>1</sup>; Sprícigo, J.F.W.<sup>2</sup>; Simões, L.M.S.<sup>3</sup>; Leme, L.O.<sup>4</sup>; Dode, M.A.N.<sup>5</sup>; Pivato, I.<sup>6</sup>

As condições de cultivo podem influenciar diretamente a qualidade dos embriões PIV e a sensibilidade à criopreservação. A suplementação dos meios de MIV e CIV com SFB é rotineiramente utilizada na PIVE, entretanto a presença de soro pode resultar em acúmulo de lipídios e redução na criotolerância. A BSA é uma alternativa de fonte protéica que pode ser usada em substituição ao SFB para melhorar a resposta à criopreservação de embriões PIV (Hiroyuki Abe. *Molecular Reproduction and Development* 61:57-66.2002). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito destas diferentes fontes proteicas no desenvolvimento embrionário e resistência ao congelamento clássico de embriões bovinos PIVE. Os CCOs obtidos de ovários de abatedouro foram selecionados e distribuídos em 2 grupos: 1) controle: CCOs maturados e cultivados em meios suplementados com 10 e 5% de SFB, respectivamente; 2) CCOs maturados e cultivados em meios suplementados com 0,4% de BSA. Em D7 os embriões em estágio de BX de cada grupo foram distribuídos em dois tratamentos, sendo que metade foi mantida fresca e a outra metade foi congelada. O congelamento foi realizado utilizando 1,5M de EG em palhetas de 0,25 mL e colocadas na máquina de congelamento (Freeze Control®, Model CL-863 System, Cryologic, Austrália). Após o descongelamento os embriões foram avaliados às 24h e 48h quanto a expansão e eclosão. Os dados foram analisados pelo teste Qui-Quadrado ( $P < 0,05$ ). A taxa de clivagem foi semelhante para os grupos 1 (85,8%,  $n=239$ ) e 2 (81,7%,  $n=213$ ), entretanto a taxa de blastocisto foi superior para o grupo 1 (41,4%,  $n=99$  vs 26,8%,  $n=57$ ). Após o descongelamento, o grupo cultivado na presença de SFB e criopreservado, apresentou uma menor taxa de eclosão às 24 h (3,2%) do que o fresco (30,6%). Já no grupo produzido na presença de BSA, a taxa de eclosão foi semelhante entre o grupo criopreservado (19,0%) e o fresco (13%). Às 48 h de cultivo pós-descongelamento a taxa de eclosão foi menor no congelado do que no fresco tanto no grupo cultivado com SFB (6,5 e 61,1%) quanto no grupo cultivado no BSA (30,4 e 61,9%). Entretanto, para os criopreservados, o grupo com BSA apresentou maior taxa de eclosão do que os com SFB. Os resultados sugerem que os embriões produzidos na ausência de SFB apesar da menor produção de blastocistos, apresentam melhor resistência ao congelamento do que os cultivados na presença de SFB.

Apoio: Embrapa.

<sup>1</sup> Ciências Animais, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Reprodução Animal, mestrado, Universidade Federal de Lavras-UFLA

<sup>4</sup> Ciências Animais, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup> Medicina Veterinária, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

## EFEITO DA VITRIFICAÇÃO PELO MÉTODO CRYOTOP NO PERFIL DA EXPRESSÃO DE GENES DE EMBRIÕES BOVINO PRODUZIDOS IN VITRO

Leme, L.O.<sup>1</sup>; Dufort, I.<sup>2</sup>; Sprícigo, J.F.W.<sup>3</sup>; Braga, T.F.<sup>3</sup>; Sirard, M.A.<sup>4</sup>; Franco, M.M.<sup>5</sup>; Dode, M.A.N.<sup>5</sup>

Nas últimas décadas, progresso considerável tem sido feito para melhorar os sistemas de produção *in vitro* (PIV). Entretanto, embriões PIV ainda são muito sensíveis à criopreservação comparados aos embriões *in vivo*. Este fato, permanece como o fator limitante para o avanço da técnica e disseminação do uso da tecnologia de PIV no mercado da genética bovina. No presente estudo, foram analisadas alterações na expressão gênica induzida pela vitrificação por *Cryotop* em blastocistos bovinos, usando lâminas de microarranjo da AgilentEmbryoGENE. Embriões bovinos PIV no estágio de blastocisto (144 a 156 horas após a inseminação) foram vitrificados pelo sistema *Cryotop* e comparados com embriões não vitrificados (Controle). Após a vitrificação, os embriões foram desvitrificados e cultivados por 4 horas adicionais. Os embriões que re-expandiram ou evoluíram para o estágio de blastocisto expandido foram usados para a análise de microarranjo e quantificação em qPCR. A taxa de sobrevivência dos embriões foi maior ( $P < 0,05$ ) em embriões do grupo controle (100%) do que os do grupo vitrificado (87%). A análise da expressão global dos genes revelou que apenas 43 genes tiveram expressão significativamente alterada nos embriões vitrificados, comparados aos embriões controle, considerando um *foldchange* bastante restrito ( $P < 0,05$ ). Dez genes (KRT8, CD38, HSPB1, PAG2, SLC1A4, HSPA5, TXNIP, FOSL1, MSH6 e GAPDH, incluindo o gene endógeno) foram quantificados por qPCR. Apenas o gene FOSL1 apresentou expressão diferencialmente significativa ( $P < 0,05$ ), de acordo com ambos os métodos, e este gene estava mais expresso em embriões vitrificados. Este resultado pode ser explicado pela observação morfológica de que alguns embriões apresentam um fenótipo após a criopreservação, mas a maioria não, resultando em variações nos resultados. No entanto, a maior consequência da vitrificação parece ser a ativação da via apoptótica em algumas células. De fato, o FOSL1 faz parte da ativação do fator do complexo de transcrição da proteína-1 (AP-1) e também está relacionado em vários processos celulares, incluindo proliferação, diferenciação e apoptose. Entretanto, nossos resultados sugerem que um aumento limitado do processo de apoptose foi a única resposta detectável dos embriões vitrificados.

Apoio: Embrapa e Capes.

<sup>1</sup> Ciências Animais, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia, Ph.D., Université Laval, Quebec, Canadá

<sup>3</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Medicina Veterinária, Ph.D., Université Laval, Quebec, Canadá

<sup>5</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## EFEITO DO CULTIVO IN VITRO NO TAMANHO E SEXO DE EMBRIÕES BOVINOS NO D14 DE DESENVOLVIMENTO

Guimarães, A.L.S.<sup>1</sup>; Carvalho Neto, J.O.<sup>2</sup>; Leme, L.O.<sup>3</sup>; Sprícigo, J.F.W.<sup>1</sup>; Pivato, I.<sup>4</sup>; Dode, M.A.N.<sup>5</sup>

Vários estudos têm sido realizados visando avaliar o efeito do cultivo na qualidade de embriões produzidos in vitro. A maioria desses estudos utiliza como método de avaliação a produção de blastocisto até o dia 7 (D7) ou dia 8 (D8) de desenvolvimento. Poucos estudos focam em estágios mais avançados do embrião, ou mesmo se o cultivo in vitro afeta o desenvolvimento embrionário após a transferência do embrião para a receptora. Dentro dessa perspectiva, avaliação de embriões no dia 14 (D14) de desenvolvimento permite uma avaliação mais acurada da qualidade dos mesmos, produzidos por diferentes técnicas de reprodução assistida ou aqueles que foram submetidos a diferentes tratamentos e manipulações. Objetivou-se avaliar se a PIVE afeta o tamanho e o sexo de embriões em um estágio mais avançado do desenvolvimento (D14). Para a PIVE, ovócitos obtidos de ovários de abatedouro foram maturados, fecundados (D0) e cultivados in vitro até D7. No D7 de cultivo os blastocistos grau um foram selecionados e transferidos em número de 15 para o corno uterino de receptoras previamente sincronizadas (grupo *vitro/vivo*). Como controle, foram utilizados embriões coletados no dia 7 pós-inseminação de doadoras superestimuladas. Após a lavagem uterina os blastocistos em estágio e qualidade semelhante aos *in vitro* foram transferidos em número de 12 para receptoras sincronizadas (grupo *vivo/vivo*). Embriões de ambos os grupos foram coletados em D14 e mensurados individualmente. Posteriormente, foi realizada biópsia do trofoblasto de cada embrião, sendo a biópsia armazenada para a extração do DNA genômico e determinação do sexo. A taxa de recuperação dos embriões e os dados de proporção macho:fêmea entre embriões produzidos in vivo ou in vitro foi analisado pelo teste do Qui-quadrado ( $P < 0,05$ ) e as mensurações dos embriões foram comparadas utilizando o teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ) pelo programa Prophet 5.0. Observou-se uma maior taxa de recuperação de embriões do grupo *vitro/ vivo* ( $45.5\% \pm 55.8$ ) em relação ao grupo *vivo/ vivo* ( $26.7 \pm 55.1$ ). Entretanto, quando analisa a proporção de embriões macho:fêmea do grupo *vitro/vitro* (28:19) e do grupo *vivo/vivo* (12:12), nenhuma diferença foi detectada. Em relação ao tamanho dos embriões coletados em D14, não foi encontrada diferença entre embriões machos ou fêmeas produzidos in vitro ( $722,6 \pm 116,8$  e  $608,2 \pm 121,3$ , respectivamente) ou in vivo ( $1194.9 \pm 244.3$  e  $1181.5 \pm 214.7$ , respectivamente). Além disso, o tamanho dos embriões machos e fêmeas provenientes do mesmo grupo também foram semelhantes. Esses resultados sugerem que os embriões em D14 de desenvolvimento não são afetados pelo cultivo in vitro, não sofrem o efeito sexo (proporção macho/fêmea) e nem o desenvolvimento dos mesmos são comprometidos quando comparados aos produzidos in vivo.

Apoio: CNPq/FAP-DF e Capes.

<sup>1</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Medicina Veterinária, pós-doutorado, Universidade de São Paulo-USP, bolsista FAPESP

<sup>3</sup> Ciências Animais, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Medicina Veterinária, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## EFEITO DO FATOR DE CRESCIMENTO DE FIBROBLASTO-10 DURANTE A PRÉ-MIV E MIV NA QUALIDADE DE EMBRIÕES BOVINOS PIV

Diógenes, M.N.<sup>1</sup>; Guimarães, A.L.S.<sup>2</sup>; Leme, L.O.<sup>1</sup>; Dode, M.A.N.<sup>3</sup>

Com o objetivo de melhorar a competência ovocitária, tem sido proposto por diversos autores um período de pré-MIV, no qual a retomada da meiose, que ocorre logo após a aspiração, é bloqueada, mas nenhum incremento na produção de embriões tem sido obtido (Bilodeau-Goeseels, 2012; Guemra et al., 2014, *Theriogenology*, v. 81, p. 982–7; Guimarães et al., 2015 *Theriogenology*, 83:52-7). Os fatores de crescimento de fibroblastos (FGF) são importantes fatores de crescimento que atuam desde a formação inicial das células reprodutivas até a atresia ou ovulação. Dentre eles o FGF10, quando adicionado durante MIV, melhora a qualidade embrionária (Zhang et al., 2010, *Reproduction*, v. 140, p. 815–26). O presente estudo objetivou avaliar se a suplementação do meio de pré-MIV e MIV com FGF10 melhora a qualidade de embriões bovinos avaliados pela cinética de desenvolvimento e pela expressão gênica. Para isso, CCOs foram aspirados de ovários de abatedouro e, após a seleção, foram distribuídos em três grupos: T1 (Controle), com CCOs maturados por 22 horas (N=116); T2 (PMC-MC), com CCOs pré-maturados por 22 horas e posteriormente maturados por 22 horas (N=119); T3 (PFGF-MFGF), com CCOs pré-maturados por 22h com FGF10 e posteriormente maturados por 22 horas com FGF10 (N=112). O meio pré-MIV continha 0,2% de BSA,  $10^{-4}$  UI/mL de FSHrh e  $10\mu$ M de Cilostamida, já o MIV, 0,4% de BSA e  $10^{-1}$  UI/mL de FSHrh. A concentração de FGF10 foi de 0,5 ng/ml. Após a maturação, os CCOs foram fecundados e cultivados até o D8 de desenvolvimento. Os blastocistos eclodidos no D8 foram congelados em RNA later para avaliação da expressão gênica por qPCR. Foi avaliada a taxa de blastocisto em D6, D7 e D8 e esses foram categorizados em Bi, Bl, Bx e BE. A expressão relativa dos genes KRT8, PAG2, PLAC8, MSH6, HSPB1, foi avaliada por qPCR usando o Fast Sybr Green Master Mix (Applied Biosystems). O gene ACTB foi usado como controle endógeno. Os dados de taxa de blastocisto e cinética de desenvolvimento foram avaliados pelo teste do Qui-quadrado. A expressão relativa de cada gene foi calculada usando o método de  $\Delta\Delta C_t$  com correção da eficiência pelo método Pfaffl, os tratamentos foram comparados com o teste de Dunnett ( $P < 0.05$ ). Não houve diferença entre os tratamentos na taxa de blastocistos em D6 e D7 (T1: 33,6; 53,4; T2: 28,6; 43,7; T3: 33,9; 47,3). Em D8, o grupo T2 apresentou taxa de blastocisto inferior aos demais grupos. A adição de FGF-10 não aumentou a velocidade de desenvolvimento embrionário, pois a taxa de Bx no D7 e Be no D8 nesse grupo (64,2 e 72,0) foi semelhante ao do T2 (50 e 64,6) e do T1 (77,4 e 56,2). Somente o gene MSH6, o qual está relacionado com reparo de DNA, apresentou diferença na expressão entre os tratamentos, sendo inferior no grupo T3 quando comparado ao controle ( $P < 0,05$ ). Os resultados sugerem que a adição de FGF10 durante um período de pré-MIV e MIV não afeta a quantidade ou a qualidade dos embriões bovinos PIV.

Apoio: Embrapa e Capes.

<sup>1</sup> Ciências Animais, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **PADRÃO DE METILAÇÃO DO GENE IGF2 DE CÉLULAS DO TROFOBlasto DE EMBRIÕES BOVINOS EM D14 COM DIFERENTES TAMANHOS**

Leme, L.O.<sup>1</sup>; Carvalho Neto, J.O.<sup>2</sup>; Franco, M.M.<sup>3</sup>; Dode, M.A.N.<sup>3</sup>

Em mamíferos, a correta metilação e reprogramação do DNA, assim como a manutenção do genoma *imprinting* após a fecundação, são essenciais para desenvolvimento embrionário e manutenção da gestação. Um importante gene *imprinted*, relacionado com o desenvolvimento embrionário e placentação é o IGF2. Muitos estudos têm relacionado mudanças no padrão de metilação deste gene, com tecnologias de reprodução assistida. O objetivo deste estudo foi avaliar o padrão de metilação da região diferencialmente metilada (DMR) localizada no exon 10 do gene IGF2, em embriões bovinos do D14 de desenvolvimento e produzidos *in vitro*. Os embriões foram produzidos *in vitro*, a partir de ovócitos provenientes de ovários coletados em frigorífico. Do D7 após a fecundação, apenas embriões grau I de qualidade foram selecionados e transferidos para o útero de receptoras previamente sincronizadas, de acordo com o projeto UnBDOC número 107942/2009, aprovado pelo CEUA. Sete dias após serem transferidos, os embriões foram coletados (D14 de desenvolvimento) e seu tamanho mensurado usando o programa MotiCImage Plus 2.0. Embriões maiores que 45 mm foram considerados grande (G) e menores que 25 mm foram considerados pequenos (P). Após serem medidos, foi realizada uma biopsia do trofoblasto para avaliação do padrão de metilação do gene IGF2, pela técnica de bisulfito de sódio. O padrão de metilação de cada embrião foi realizado individualmente, sendo cada embrião considerado uma réplica. No mínimo 5-8 clones de cada embrião foram sequenciados e analisados pelo programa BiQAnalyser, com a sequência de Genbank NM\_174087.3 utilizada como referência. O padrão de metilação entre os grupos foi comparado usando o teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ). Nenhuma diferença no padrão de metilação do DNA foi encontrada entre embriões dos grupos P ( $26,7 \pm 8,3\%$ ,  $n=37$  clones) ou G ( $34,8 \pm 2,9\%$ ,  $n=20$  clones). Como já é descrito, a região estudada apresenta um padrão hipermetilado em espermatozoides e hipometilado em ovócitos, sendo esperado uma porcentagem de 50% de metilação para células somáticas, uma vez que esta região é considerada como sendo *imprinted*. Embora tenha sido identificado uma menor porcentagem de metilação do que esperado para uma região *imprinted*, este pode ser o padrão fisiológico para as células do trofoblasto neste estágio de desenvolvimento embrionário. Este é o primeiro relato descrevendo o padrão de metilação desta região do gene IGF2 em embriões no D14 de desenvolvimento com diferentes tamanhos. Pode-se concluir que o padrão de metilação da DMR intragênica do exon 10 do gene IGF2 não é afetada pelo tamanho do embrião bovino produzido *in vitro*, e avaliado o D14 de desenvolvimento.

Apoio: CNPq e FAP-DF.

---

<sup>1</sup> Ciências Animais, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Medicina Veterinária, pós-doutorado, Universidade de São Paulo-USP, bolsista FAPESP

<sup>3</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



## PERFUSÃO SANGUÍNEA NO FOLÍCULO PRÉ-OVULATÓRIO EM VACAS NELORE SUBMETIDAS A PROTOCOLOS DE IATF

Scaliante-Junior, J.R.<sup>1</sup>; Franco, M.M.<sup>2</sup>; Rodrigues, S.A.D.<sup>3</sup>; Silva, B.D.M.<sup>2</sup>

Exames ultrassonográficos com o doppler colorido são uma ferramenta útil, não invasiva, para avaliação do fluxo sanguíneo, o que permite observação visual em tempo real da perfusão sanguínea em uma área delimitada dentro do corpo lúteo e na parede de folículos pré-ovulatórios. O objetivo deste estudo foi caracterizar mudanças no fluxo sanguíneo, na parede do folículo pré-ovulatório na última onda de crescimento folicular desde a retirada do implante de progesterona até a ovulação, utilizando indutores de ovulação em vacas da raça nelore. Foram utilizadas 28 vacas, divididas aleatoriamente em dois protocolos, o protocolo BED9 (n=14) constituiu da colocação de um implante intravaginal de progesterona (P4, Sincrogest®, Ourofino, Cravinhos-SP) e 2 mg de benzoato de estradiol IM (BE, Benzoato HC, Hertape Calier, Juatuba-MG) no dia 0 (D0); retirada da P4 e 0,150 mg de d-cloprostenol (PGF2 $\alpha$ , Veteglan®, Hertape Calier, Juatuba-MG) IM no D8 e 1 mg de BE IM 24 h após. O protocolo BED8 (n=14) constituiu da colocação de um implante intravaginal de P4 e 2 mg de BE IM no D0; retirada da P4, aplicação de 0,150 mg de PGF2 $\alpha$  e 1 mg de BE no D8, ambos IM. O grupo de vacas foi avaliado com ultrassom Color Doppler (MyLab™30Gold, Esaote) em intervalos de 6 horas até a ovulação dos folículos dominantes ou limite máximo de 90 horas, sendo 0 hora considerado o momento em que foi retirado o implante intravaginal de P4. Das 28 vacas, 11 (39,3%) não ovularam até às 90 horas, sendo 4 do BED9 e 7 do BED8. Para a avaliação da vascularização folicular foi adotada uma classificação subjetiva, na qual folículos com irrigação de 0 a 20% de sua circunferência foram classificados em grau 1, 20 a 40% grau 2, 40 a 60% grau 3, 60 a 80% grau 4 e 80 a 100% grau 5. Para a comparação estatística do horário de ovulação e tamanho médio do folículo pré-ovulatório foi utilizado o t-test para distribuições normais e teste de Mann-Whitney para distribuições não normais (P<0,05). Para a quantidade total de folículos em cada horário avaliado, classificado com os diferentes graus de irrigação foi utilizado o teste de Fisher (P<0,05). O tamanho médio do folículo ovulado foi 12,83 $\pm$ 1,31 e 11,85 $\pm$ 1,71mm (P=0,20) em BED9 e BED8, respectivamente. Foi observada diferença estatística no tempo médio de ovulação, 74,4 $\pm$ 3,09 em BED9 e 61,71 $\pm$ 11,33 horas em BED8 (P=0,01). Com relação à vascularização, no BED9 foi observado que nas primeiras 24 h a maioria dos folículos se mantinham em grau 2, no intervalo de 24 a 30 h foi observada uma mudança de vascularização de grau 2 para grau 3, de grau 3 para 4 no intervalo de 36 para 42 horas e de grau 4 para grau 5 no intervalo de 66 para 72 horas, permanecendo até ovular. No BED8 foi observado que de 0 hora até 30 horas a maioria dos folículos se mantinham em grau 3, no intervalo de 30 para 36 horas ocorreu um aumento de folículos grau 4, de grau 4 para 5 no intervalo de 54 para 60 horas, permanecendo até ovular. Os resultados sugerem que o BE aplicado no momento da retirada do implante antecipa a ovulação comparando com a aplicação 24 h depois e que próximo à ovulação há um aumento da vascularização na parede do folículo pré-ovulatório, o que faz com que o Color Doppler possa presumir o folículo pré-ovulatório pela sua irrigação e a proximidade da ovulação.

<sup>1</sup> Medicina Veterinária, mestrado, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

<sup>2</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Medicina Veterinária, graduação, Universidade Estadual de Maringá-UEM

## PROTOCOLO HORMONAL EM BEZERRAS NELORE PARA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES

Zacarias, T.A.<sup>1</sup>; Guimarães, A.L.S.<sup>2</sup>; Scaliante- Junior, J.R.<sup>3</sup>; Rodrigues, S.A.D.<sup>4</sup>; Dode, M.A.N.<sup>5</sup>; Figueiredo, R.A.<sup>5</sup>

Manejos reprodutivos para inclusão de fêmeas bovinas pré-púberes na PIVE podem permitir aceleração do ganho genético de rebanhos diminuindo o intervalo entre gerações. Neste estudo objetivou-se avaliar um protocolo hormonal sobre características ovarianas e OPU (Laparoscópio Storz Xenon300W)/PIVE de 9 bezerras Nelore (delineamento cross-over), de 4-7 meses de idade. No grupo controle (GC, n=9) a ultrassonografia transretal (US) foi realizada diariamente (MyLab 30VetGold, Esaote, transdutor 5-7,5MHz) por 8 dias (de D0 à OPU) e feita a ablação dos maiores folículos em D2 (5 dias antes da OPU). No grupo tratado (GT, n=9) também se realizou 8 dias de US, sendo D0 o início do tratamento (dispositivo intravaginal-0,33g Progesterona-P4. Eazi-Breed-CIDR, Pfizer) e uma injeção de 2mg de Benzoato de Estradiol (IM. Ric-BE, Tecnopec). A partir de D4, foram administradas em 3 dias, 6 injeções (IM FSH, 12/12h: 40mg+5 doses 20mg.Total:140mg; Folltropin, Bioniche). Junto à última dose, administrou-se 2,5mg de LH (IM. Lutropin, Bioniche). A OPU foi realizada 20-24h após a última injeção de FSH (D7). Os dispositivos (P4) foram removidos após as OPU. Os COCs aspirados foram selecionados, maturados, fecundados e cultivados in vitro até D7. Para controle da PIVE foram utilizados COCs obtidos de ovários de abatedouro (Grupo Abatedouro-GA). Dados de US ou de OPU foram agrupados e comparados simultaneamente entre GC vs GT em D0 e D7, sendo analisados segundo sua distribuição, pelos testes t e Man-Whitney. Dados da PIVE foram comparados entre GC, GT e GA pelos testes Qui-Quadrado e Kruskal Wallis (PROPHET 5.0; BBN-Systems&Technologies). O tratamento (GT) aumentou ( $p<0,05$ ) a população folicular total ( $20,0 \pm 4,95$  em D0 vs  $26,66 \pm 4,24$  em D7), os folículos  $\geq 2,5\text{mm}$  ( $4,11 \pm 1,96$  em D0 vs  $11,55 \pm 4,09$  em D7), o diâmetro ovariano ( $13,08 \pm 1,0\text{mm}$ , em D0 vs  $14,81 \pm 1,38\text{mm}$  em D7) e o número de folículos aspirados (95 vs 152, respectivamente GC vs GT). O GT teve mais ovócitos graus I e II (59% vs 25%, respectivamente GT e GC) e, inversamente, o GC teve mais ovócitos graus III e IV (53,3% vs 37,1%, respectivamente GC e GT);  $p<0,05$ . Porém, no GT não se observou elevação ( $p>0,05$ ) da taxa de clivagem (49,33% vs 51,42%; respectivamente GC vs GT), da taxa e do número de blastocistos em D7 (1,33% vs 8,57% ou 3 vs 9; respectivamente para taxa e número em GC vs GT. Taxa de blastocistos de GA: 24,41%) e nem do número de embriões/fêmea doadora (0,33 vs 1,0; respectivamente GC vs GT). Concluiu-se que a manipulação hormonal elevou o número de folículos observados e aspirados, de ovócitos graus I e II, mas não levou ao aumento na produção de embriões destes animais.

Apoio: Embrapa, Capes e Fapemig.

<sup>1</sup> Produção Animal, mestrado, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

<sup>2</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Medicina Veterinária, mestrado, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

<sup>4</sup> Medicina Veterinária, graduação, Universidade Estadual de Maringá-UEM

<sup>5</sup> Reprodução Animal. Ph.D - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

## RESPOSTA DE EMBRIÕES SUÍNOS DAS RAÇAS PIAU E MOURA À VITRIFICAÇÃO POR *Cryotop*

Leme, L.O.<sup>1</sup>; Sprícigo, J.F.W.<sup>2</sup>; Silva, P.C.P.<sup>3</sup>; Diógenes, M.N.<sup>1</sup>; Franco, M.M.<sup>4</sup>; Ramos, A.F.<sup>5</sup>; Dode, M.A.N.<sup>4</sup>

As raças suínas Piau e Moura são localmente adaptadas e estão sendo extintas e substituídas por raças comerciais. Por isso, existe uma demanda para que material genético desses animais seja preservado. No entanto, a criopreservação de embriões suínos tem sido limitada pela alta crio-sensibilidade dos mesmos. A vitrificação e, especificamente, o método *Cryotop*, tem sido proposto como metodologia mais bem-sucedida para a criopreservação de embriões de várias espécies mamíferas, apresentando como vantagem a não formação de cristais de gelo e alta velocidade de resfriamento. Neste estudo, foi avaliada a resposta de embriões suínos das raças Piau e Moura à vitrificação por esse método. Para tanto, fêmeas das referidas raças (projeto aprovado no CEUA 150682/2012) tiveram cio observado e nos D6 ou D7 após monta natural, foram realizadas coletas in vivo de embriões por laparoscopia de fêmeas Moura (n=18) e Piau (n=58), das quais se obtiveram 353 embriões (108 Moura e 245 Piau) em estágios variados de desenvolvimento. Para a vitrificação, foram utilizados embriões frescos em estágio de BL e BX, graus I e II, que no momento das coletas foram divididos em grupo Controle (C) e grupo Vitricado (V) para cada raça. Após a desvitrificação, os embriões de ambos os grupos foram cultivados em meio SOF, a 38,5 °C e 5% CO<sub>2</sub>. As 24 e 48 h de cultivo foram avaliadas as taxas de re-expansão e eclosão. Após essa ponderação, os embriões eclodidos foram congelados e estocados para quantificação da expressão de genes relacionados à via de apoptose celular por qPCR, no qual foi utilizado *Sybr Green FAST Master Mix*. As análises estatísticas para taxas de re-expansão e eclosão foram feitas pelo teste Chi-quadrado e a expressão de genes foi feita pelo  $\Delta\Delta Ct$ , corrigido por Pfaffl, utilizando a ACTB como controle endógeno. Para a raça Moura, observou-se 31 embriões C e 32 embriões V. Para a raça Piau, 47 embriões C e 56 embriões V. Entre os tratamentos, C e V, houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) das taxas de re-expansão e eclosão em ambas as raças, as 24 e 48 h de observação. Comparando os V, entre Moura e Piau, não houve diferença ( $P < 0,05$ ). Na avaliação da taxa de eclosão às 24 h, comparando-se embriões frescos entre Moura e Piau, houve diferença (n = 26 [83,9%] e 27 [57,4%], respectivamente). Porém essa alteração não permaneceu na observação de 48 horas (n = 30 [96,8%] e 39 [83,0%], respectivamente). Para análise de expressão de genes, foram utilizados *pools* de cinco embriões C e V da raça Piau. Não foi possível realizar o qPCR para embriões Moura devido ao número insuficiente. Dentre os genes analisados, BCL2L1, BAK, CASP3, apenas o BAX apresentou expressão diferencial entre os grupos, sendo mais expresso para o grupo V ( $P = 0,04$ ), em relação ao C. Os resultados obtidos indicam que os embriões suínos, mesmo vitrificados por *Cryotop*, apresentam baixa recuperação à criopreservação. No entanto, a resposta da expressão dos genes sugere que os embriões que eclodiram às 48 h reagiram bem ao stress da vitrificação.

Apoio: Embrapa e Capes.

<sup>1</sup> Ciências Animais, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Medicina Veterinária, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Conservação Rec. Genéticos Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **TRANSFERÊNCIA INTRAFOLICULAR DE OVÓCITOS IMATUROS: UMA ALTERNATIVA PARA A MULTIPLICAÇÃO DE FÊMEAS BOVINAS**

Sprícigo, J.F.W.<sup>1</sup>; Sena-Netto, S.B.<sup>2</sup>; Simões, L.M.S.<sup>3</sup>; Leme, L.O.<sup>2</sup>; Guimarães, A.L.S.<sup>1</sup>; Pivato, I.<sup>4</sup>; Dode, M.A.N.<sup>5</sup>

Apesar da SOV, produzir um embrião de melhor qualidade, tem de se respeitar um intervalo entre seguidos protocolos de superovulação, pois a utilização do FSH altera os padrões fisiológicos da dinâmica folicular, diminuindo os resultados nas superovulações subsequentes. Enquanto que a PIVE, a doadora pode ser submetida a OPU toda semana, porém, os embriões produzidos são de qualidade inferior. Uma técnica capaz de aliar os efeitos positivos destas duas técnicas é a transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI), em que ovócitos obtidos por OPU de uma doadora, são injetados no folículo dominante, de uma receptora sincronizada. O objetivo deste experimento foi avaliar a produção de embriões após TIFOI. Foram utilizadas 12 novilhas Nelore, previamente sincronizadas para indução do estro. A injeção dos ovócitos foi realizada no folículo dominante, 58 horas após a retirada da P<sub>4</sub>. A média do diâmetro dos folículos utilizados foi de  $14 \pm 1.7$  mm. Foi utilizado uma guia de OPU, com uma probe de ultrassom de 7,5 mHz, além de um sistema de aspiração modificado. O sistema foi preenchido com líquido folicular (LF), acoplado a uma agulha 27G. Ovócitos de graus 1 e 2 foram obtidos por punção de ovários de abatedouro. Após a seleção, 25 CCO foram alocados na agulha com aproximadamente 80 µL de LF. Uma seringa de insulina na outra extremidade do sistema serviu para injeção. Uma única dose de sêmen foi utilizada para inseminação artificial (IA), realizada 6 horas após a TIFOI. A coleta de embriões foi realizada 7 dias após. Foram avaliadas as taxas de recuperação e viabilidade embrionária. Antes da coleta, os animais tiveram os ovários avaliados para a mensuração dos CL e para confirmar se a ovulação ocorreu no ovário em que foi realizado a TIFOI. O diâmetro médio dos CL foi de  $20 \pm 2.3$  mm. Foram confirmados CL no mesmo ovário da TIFOI em 9 animais (75%). A média de estruturas em D7 foi  $3.7 \pm 2.3$ , por animal, correspondente a 15% do total de ovócitos. Do total de estruturas, 58% eram embriões viáveis uma média de  $2,2 \pm 1.9$  embrião por animal. Apesar da baixa eficiência, a TIFOI é uma alternativa menos onerosa, para multiplicação de fêmeas bovinas, e permite a produção de embriões de boa qualidade. Além disso, é um modelo de pesquisa interessante.

Apoio: Embrapa, Capes e CNPq.

---

<sup>1</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Ciências Animais, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Medicina Veterinária, mestrado, Universidade Federal de Lavras-UFL

<sup>4</sup> Medicina Veterinária, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## VALIDAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES PARA COMPETÊNCIA OVOCITÁRIA EM CÉLULAS DO CUMULUS BOVINAS

Kussano, N.R.<sup>1</sup>; Leme, L.O.<sup>2</sup>; Guimarães, A.L.S.<sup>3</sup>; Franco, M.M.<sup>4</sup>; Dode, M.A.N.<sup>4</sup>

Considerando que as células do *cumulus* (CC) possuem comunicação bidirecional com o ovócito e que desempenham papel importante no seu crescimento e maturação, elas podem ser utilizadas para indicar a qualidade do ovócito de modo não invasivo. Vários estudos têm identificado genes nas CCs, cuja expressão está associada a competência ovocitária e, que podem ser utilizados como marcadores. Entretanto, para comprovar a eficiência desses como marcadores é necessário acompanhar o desenvolvimento individual de cada CCO até a formação do blastocisto. O presente estudo objetivou quantificar a expressão de genes candidatos em CCs de ovócitos com alta e baixa capacidade de produzir embriões *in vitro*. Inicialmente, foi avaliado o efeito do sistema de cultivo individual e da biópsia na produção de embriões. Os complexos-cumulus-ovócitos (CCOs) foram distribuídos em três grupos: controle (CCOs cultivados em grupos); WOW (CCOs cultivados individualmente no sistema WOW); e microgota (CCOs cultivados individualmente em microgotas de 20 µL). Os diferentes sistemas foram utilizados para a MIV, FIV e CIV. Foi comparada a produção de embriões, do cultivo em grupo e do cultivo individual em microgota, com e sem biópsias. O nível de transcritos dos genes GPC4, IGFBP4, FSHR, GHR, EGFR, FGF11, SLC2A1, SLC2A3, SPRY1, VCAN e KRT8, foi quantificado por PCR em tempo-real (qPCR) em 5 pools de 7 biópsias de CCs que foram obtidos de COC imaturos e, agrupadas de acordo com o resultado da produção de embriões, em: CCOs que formaram blastocisto expandido em D7; CCOs que não clivaram e, CCOs que clivaram, mas que não chegaram a blastocisto. A produção de embriões em D7 foi inferior ( $P < 0,05$ ) nos grupos cultivados individualmente (WOW=17,9%  $n=95$ ; microgota= 26,3%  $n=95$ ) do que no controle (45,0%,  $n=209$ ). Entretanto, a biópsia não afetou ( $P > 0,05$ ) a produção de blastocistos em nenhum dos grupos. Dos 11 genes avaliados nas CCs, três mostraram diferença no nível de RNAm. O GHR ( $P=0,09$ ) e VCAN ( $P=0,06$ ) tiveram maior expressão em CCs de ovócitos que chegaram a blastocistos comparado aos que não clivaram; já o GPC4 foi mais expresso ( $P=0,007$ ) nas CCs dos que chegaram a embrião do que os que apenas clivaram. Conclui-se que apesar do cultivo individual reduzir a taxa de blastocisto, a biópsia de CC não afeta a produção de embriões. A expressão dos genes GHR, VCAN e GPC4 em CC está associada à capacidade do ovócito de formar embrião e, pode ser utilizada como marcador não invasivo da competência ovocitária.

Apoio: Embrapa e Capes.

<sup>1</sup> Medicina Veterinária, mestrado, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

<sup>2</sup> Ciências Animais, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **MICROORGANISMOS**

## ANÁLISE COMPARATIVA DA VARIABILIDADE GENÉTICA E PATOGENICIDADE DE CINCO ISOLADOS DE *Helicoverpa armigera* NPV

Santos, L.A.V.M.<sup>1</sup>; Araujo, S.K.<sup>1</sup>; Craveiro, S.R.<sup>2</sup>; Ribeiro, Z.M.A.<sup>3</sup>; Gomes, A.C.M.M.; Soares, C.M.S.<sup>4</sup>; Castro, M.E.B.<sup>5</sup>

A praga *Helicoverpa armigera*, conhecida como lagarta do algodão, é uma espécie exótica ao Brasil e tem causado grandes prejuízos econômicos ao país. Com o intuito de identificar e caracterizar baculovírus com potencial no controle da praga *H. armigera*, macerados de larvas *H. armigera* mortas por vírus, coletadas em plantações de algodão do Mato Grosso, foram purificados por ultracentrifugação em gradiente de sacarose contínuo (40-65%) e utilizados em análises morfológica e molecular e na avaliação de patogenicidade. Amostras de cinco isolados virais purificados foram analisadas por eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante (SDS-PAGE) e por microscopia óptica (MO) e microscopia eletrônica de transmissão (MET). As análises evidenciaram corpos de oclusão (OBs), de forma poliédrica, caracterizados pela presença de sua principal proteína estrutural, a poliedrina, contendo um único nucleocapsídeo por envelope (*single*: SNPV). Estas observações confirmam tratar-se de nucleopolyhedrovirus (NPV) pertencentes ao gênero *Alphabaculovirus* e família *Baculoviridae*. Os isolados do vírus classificado, *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus (HearNPV), foram nomeados de HearNPV-MT1, HearNPV-MT2, HearNPV-MT3, HearNPV-MT4 e HearNPV-MT5. Análises de DNAs desses isolados, clivados com as enzimas de restrição *Bam*HI, *Eco*RI, *Hind*III e *Pst*I, mostraram diferentes tamanhos e números de fragmentos sugerindo a existência de variantes genotípicos. O DNA de HearNPV-MT5 também foi utilizado para amplificação de genes conservados em baculovírus (*lef-8*, *pif-2* e *polh*) e os produtos de PCR (reação em cadeia da polimerase) estão sendo sequenciados para comprovação de seus genes correspondentes. Para a seleção dos isolados mais virulentos, bioensaios foram conduzidos em triplicata utilizando 30 larvas de 3º instar (*H. armigera*) para cada concentração viral testada:  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  e  $1 \times 10^8$  OBs/mL. Diferentes graus de patogenicidade foram observados entre os isolados virais analisados. O isolado HearNPV-MT5 foi o mais patogênico, sendo capaz de causar mortalidade de larvas a partir do 4º dia pós-infecção (dp.i.) atingindo no 7dp.i. 100% de mortalidade. Este isolado foi, portanto, selecionado e considerado como um excelente princípio ativo para produção de bioinseticidas para o controle de pragas *Helicoverpa*.

Apoio: Embrapa/Cenargen, IMAmt, CNPq (PIBIC) e Capes.

<sup>1</sup> Ciências Biológicas, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup> Biologia Molecular, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Fitopatologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Entomologia, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

<sup>5</sup> Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **ANÁLISE DE RESTRIÇÃO DO DNA DO *Erinnyis ello* Granulovírus (ISOLADO DO ACRE)**

Barros, A.M.R.<sup>1</sup>; Alcantara, G.L.<sup>2</sup>; Sanches, M.M.<sup>3</sup>; Sihler, W.<sup>4</sup>; Souza, M.L.<sup>5</sup>

O *Erinnyis ello*, conhecido como mandarová da mandioca e da seringueira, é uma das pragas mais importantes dessas culturas. A principal forma de controle desta praga tem sido feita pela utilização de produtos químicos, que além de caros, causam danos ao meio ambiente e a saúde humana. Os baculovirus são vírus que infectam invertebrados, sendo a maioria destes da ordem Lepidoptera (classe Insecta). Seu uso como um agente alternativo aos inseticidas químicos se dá por suas propriedades que conferem total segurança ao ser humano e especificidade à praga. O Baculovirus erinnyis vem sendo usado com sucesso no controle biológico desse inseto. Neste trabalho foi feita a caracterização inicial do isolado EeGV - Cruzeiro do Sul, Acre, cedido pelo Dr. Murilo Fanzolin (Embrapa, Acre). A purificação das partículas virais foi feita a partir de lagartas naturalmente infectadas no campo. Após maceração em tampão de homogeneização a amostra foi submetida a centrifugações diferenciais para eliminação de tecidos das lagartas. O material foi submetido à ultracentrifugação em gradientes de sacarose (1,26-1,30 g/ml). A purificação do DNA viral foi feita através de extrações sucessivas de fenol, fenol-clorofórmio e clorofórmio-álcool isoamílico. Após precipitação do DNA viral com etanol, o mesmo foi secado e ressuspendido para hidratação. O DNA viral foi digerido com as enzimas de restrição *Bam* HI, *Eco* RI, *Hind* III e *Pst* I. A análise dos perfis de restrição obtidos com as enzimas *Bam* HI e com *Hind* III revelou um total de sete e de três fragmentos, respectivamente. Na clivagem com *Pst* I, foram identificados oito fragmentos molares e três submolares. Na digestão com *Eco* RI foi observado um número superior a vinte fragmentos incluindo várias bandas submolares. Este isolado viral será comparado com outros isolados geográficos do EeGV para identificação de diferenças genotípicas e de virulência. A seleção de um vírus mais efetivo no controle dessas lagartas será de impacto na diminuição de custos do controle da mesma.

Apoio: Embrapa e CNPq (PIBIC).

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

<sup>2</sup> Nutrição, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>3</sup> Virologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biologia Molecular, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Virologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



## ANÁLISES MORFOLÓGICA E DE PROTEÍNAS ESTRUTURAIS DE ISOLADOS VIRAIS DE *Chrysodeixis includens*

Araujo, S.K.<sup>1</sup>; Craveiro, S.R.<sup>2</sup>; Santos, L.A.V.M.<sup>1</sup>; Ribeiro, Z.M.A.<sup>3</sup>; Gomes, A.C.M.M.<sup>4</sup>; Soares, C.M.S.<sup>5</sup>; Castro, M.E.B.<sup>6</sup>

O uso abusivo de agrotóxicos tem causado sérios desequilíbrios biológicos e ecológicos, entre outros, a destruição de predadores e parasitóides benéficos, proporcionando a ocorrência de surtos de outras pragas, como no caso da lagarta *Chrysodeixis includens*, que até pouco tempo era considerada praga secundária e atualmente praga primária na cultura da soja, com aumento populacional significativo e grandes prejuízos na produção da soja e de outras culturas atacadas pela praga. Este trabalho é uma continuidade de estudos de identificação e caracterização de isolados virais de *Chrysodeixis (Pseudoplusia) includens*, popularmente chamada lagarta-medede-palmo ou falsa-medideira, conduzidos no Laboratório de Virologia de Insetos (Cenargen). Partículas OBs (*occlusion bodies*) purificadas a partir de macerados de larvas infectadas por vírus em plantações de soja, em Primavera do Leste (MT), foram contadas em hemacitômetro com o auxílio de microscópio ótico ( $1 \times 10^9$  OBs/mL) e então submetidas a análises por microscopia eletrônica e eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) para detecção de proteínas estruturais do vírus. Para identificação taxonômica e descrição morfológica, amostras de suspensões virais foram processadas e examinadas ao microscópio eletrônico de transmissão (MET). Corpos de oclusão (OB) de forma poliédrica foram visualizados, apresentando tamanhos similares a outros isolados de *Pseudoplusia includens* SNPV (IA-IG) já descritos (de 0,5 a 1,3  $\mu$ m de diâmetro), exibindo vírions com um único nucleocapsídeo por envelope (*Single*: SNPV). Estas características, aliadas a intensa banda detectada no gel (SDS-PAGE), que corresponde a principal proteína de oclusão dos poliedros, a poliedrina com cerca de 33kDa, demonstram tratar-se, portanto, de um nucleopolyhedrovirus (NPV) do gênero *Alphabaculovirus*, espécie *Chrysodeixis includens nucleopolyhedrovirus* (ChinNPV). Em prosseguimento ao presente estudo, a atividade biológica desses isolados virais no inseto-hospedeiro deverá ser avaliada por bioensaios visando à possibilidade de uso no desenvolvimento e produção de bioinseticidas para o controle da praga *C. includens*.

Apoio: Embrapa, PRONEX/FAP-DF, CNPq e Capes.

<sup>1</sup> Ciências Biológicas, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup> Biologia Molecular, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Fitopatologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Ciências Agrárias, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Entomologia, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmT

<sup>6</sup> Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **AVALIAÇÃO DA DENSIDADE POPULACIONAL DE FUNGOS DO GÊNERO *Trichoderma* EM SOLOS CULTIVADOS EM SISTEMAS ORGÂNICOS COM ADUBAÇÃO VERDE**

Mendes, N.M.<sup>1</sup>; Silva, J.B.T.<sup>2</sup>; Menezes, J.E.<sup>3</sup>; Martins, I.<sup>4</sup>; Mello, S.C.M.<sup>5</sup>

Fungos do gênero *Trichoderma* tem apresentado sucesso como agentes de biocontrole de fitopatógenos, como promotores de crescimento de plantas e, ainda, como indutores de resistência de plantas a doenças. Além disso, são importantes na sustentabilidade dos ecossistemas naturais. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de verificar a densidade populacional desses fungos em agroecossistemas do bioma Cerrado com incorporação de adubo verde, técnica utilizada para promover melhoria das propriedades do solo. Foram consideradas durante as coletas, amostras de solos rizosféricos de plantas saudáveis de alface, cenoura e tomate provenientes de solos adubados com *Crotalaria juncea* (crotalária), *Cajans cajan* (feijão guandu), *Pennisetum glaucum* (milheto) e *Raphanus sativus* (nabo forrageiro), em área de cerrado do Distrito Federal. Os pontos de coleta foram selecionados aleatoriamente e cada amostra de solo foi acondicionada em sacos de polipropileno. Dez gramas de cada amostra foram colocadas em Erlenmeyer, suspensas em 90 ml água estéril e agitadas por 180 rpm a 25°C, por 40 minutos. Após, as suspensões foram diluídas em diferentes concentrações e 100 µl de cada diluição foram semeadas em placas de Petri, contendo meio de Martin. As placas foram incubadas a 25°C em BOD por dois dias no escuro, seguidos de exposição ao fotoperíodo de 12 horas. As culturas foram avaliadas diariamente até o aparecimento de colônia típica do gênero *Trichoderma*, cada uma sendo considerada uma unidade formadora de colônia (UFC). Os resultados mostraram que o número de UFC de *Trichoderma* variou dependendo da planta e do tipo de adubação verde incorporada ao solo. O maior número de UFC foi verificado em amostras provenientes de plantio de tomate, em área adubada com *Crotalaria juncea*. Apesar de o gênero *Trichoderma* ser um dos principais elementos da microbiota fúngica dos solos de todo o mundo, o entendimento da sua distribuição real e da dinâmica populacional desse gênero em associações com diferentes plantas e solos estão ainda sendo investigadas. Portanto, este trabalho apresenta informações relativas a esse aspecto relacionado ao agente de controle biológico em questão.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup> Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Fitotecnia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Agronomia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## CARACTERIZAÇÃO GENÔMICA DE BACULOVÍRUS ISOLADO DE LARVAS DE *Plutella xylostella* EM REGIÕES DO DISTRITO FEDERAL

Craveiro, S.R.<sup>1</sup>; Chaves, L.C.S.<sup>1</sup>; Tagliari, M.<sup>2</sup>; Togawa, R.C.<sup>3</sup>; Grynberg, P.<sup>3</sup>; Ribeiro, Z.M.A.<sup>4</sup>; Inglis, P.W.<sup>5</sup>; Ribeiro, B.M.<sup>6</sup>; Castro, M.E.B.<sup>7</sup>

*Plutella xylostella* L. (Lepidoptera, Plutellidae) é um microlepidóptero, que em sua fase larval, é considerada uma das pragas mais devastadoras de plantas da família das crucíferas no Brasil e no mundo. Essa praga, popularmente conhecida como traça-das-crucíferas, causa sérios danos às brássicas, devido ao seu poder de destruição das folhas, podendo inviabilizar a produção, trazendo grandes perdas econômicas para os agricultores. Até então, somente dois baculovírus patogênicos à *Plutella xylostella*, um do gênero *Alphabaculovirus* (PxNPV) e outro *Betabaculovirus* (PxGV) têm seus genomas sequenciados e publicados. Recentemente, no Laboratório de Virologia de Insetos (CENARGEN), um baculovírus isolado de larvas de *P. xylostella*, coletadas em plantações de couve na região do Distrito Federal, foi identificado e classificado como *Plutella xylostella granulovirus*, isolado PlxyGV-IDF2. Com o intuito de caracterizar esse isolado viral, o genoma completo de PlxyGV-IDF2 foi sequenciado, analisado e comparado com os outros vírus de *P. xylostella* descritos na literatura. O DNA de PlxyGV-IDF2 foi sequenciado por pirosequenciamento 454 (Roche) e as leituras (*reads*) foram montadas utilizando os programas MIRA e Newbler resultando em um *contig* de 97.028 pb, aproximadamente. A anotação das *open reading frames* - ORFs e a correção manual da sequência foram realizadas utilizando o programa ARTEMIS e Geneious v.6.0. Um total de 116 ORFs foram identificadas, genoma menor que o de PxGV com 120 ORFs. Os genomas de PxGV e PlxyGV-IDF2 foram alinhados utilizando o programa MAUVE sendo observada uma não colinearidade, caracterizada por uma inversão genômica de aproximadamente 50.000 pb, na região central dos genomas. Apesar dos baculovírus PxGV e PlxyGV-IDF2 apresentarem alta similaridade, uma variação estrutural foi observada indicando existir diversidade entre os genomas analisados.

Apoio: Embrapa, PRONEX/FAP-DF, CNPq e Capes.

<sup>1</sup> Biologia Molecular, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Molecular, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Bioinformática, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Fitopatologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Genética Molecular, Ph.D., Pesquisador Visitante, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup> Microbiologia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>7</sup> Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **CLONAGEM DO GENOMA COMPLETO DO *Cowpea mild mottle virus* ISOLADO DE FEIJOEIRO**

GiMENES, N.C.<sup>1</sup>; ALVES-FREITAS, D.M.T.<sup>2</sup>; FARIA, J.C.<sup>3</sup>; LACORTE, C.<sup>4</sup>; MELO, F.L.<sup>5</sup>; RIBEIRO, S.G.<sup>4</sup>

*Cowpea mild mottle virus* (CpMMV) pertence ao gênero *Carlavirus* (*Betaflexiviridae*), sendo seu genoma composto por RNA de fita simples positivo. A transmissão ocorre de modo não persistente para a planta, através da mosca branca (*Bemisia tabaci*). No Brasil, o CpMMV foi relatado em feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), cultivar Jalo, no ano de 1983, além da soja, a qual gera grandes perdas na produtividade desde 2000. Estudos preliminares realizados pelo nosso grupo de pesquisa a partir do sequenciamento de alto desempenho (NGS) em amostras de RNA fita dupla (dsRNA) extraídas de folhas de feijoeiro, coletadas no estado de Goiás, revelaram a presença de contigs pertencentes a quatro gêneros virais. Dentre eles um contig com tamanho de 8.307 kb correspondente ao genoma de CpMMV. O objetivo deste trabalho foi realizar a clonagem do genoma completo de CpMMV encontrado em feijão comum e obter um clone infeccioso utilizando a técnica de Gibson Assembly® (NEB). Primers específicos foram desenhados com base no alinhamento à sequência obtida por NGS de CpMMV para reação de Gibson Assembly®. O dsRNA foi submetido à amplificação reversa para obter o cDNA utilizando a SuperScript III (Invitrogen) e primer Oligo (dT)<sub>20</sub> (Invitrogen). O genoma completo do CpMMV assim como do vetor binário pJL- 89 foram amplificados por PCR, utilizando primers específicos e DNA polimerase de alta eficiência (Phusion®, NEB). Os fragmentos amplificados foram purificados do gel e a reação de Gibson Assembly® foi realizada conforme recomendações do fabricante. O produto da reação foi diluído e introduzido em *Escherichia coli* DH10B a fim de obter clones recombinantes. As colônias obtidas foram submetidas à PCR para confirmação da presença do inserto. Das colônias selecionadas 90% continham o genoma de CpMMV confirmando a alta eficiência da metodologia de Gibson Assembly para a clonagem do genoma completo de CpMMV.

Apoio: Embrapa.

---

<sup>1</sup> Biotecnologia, graduação, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

<sup>2</sup> Virologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Arroz e Feijão

<sup>4</sup> Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Virologia Molecular e Bioinformática, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

**CONTROLE DA BROCA DO MOGNO, *Hypsipyla grandella* ZELLER (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE), COM O USO SISTÊMICO DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER**

Castro, M.T.<sup>1</sup>; Montalvão, S.C.L.<sup>2</sup>; Monnerat, R.G.<sup>3</sup>

Um dos principais entraves para o estabelecimento do plantio de mogno (*Swietenia macrophylla* King) é a ocorrência da *Hypsipyla grandella* Zeller, que ataca o broto terminal em mudas e árvores novas, formando galerias em seu interior. Devido a sua elevada importância comercial, ecológica e paisagística, o interesse de realizar pesquisas com o intuito de preservar, conservar e garantir o uso sustentável do mogno é evidente, sendo necessárias pesquisas com o intuito de diminuir os prejuízos causados por essa praga. Portanto, esse trabalho tem como objetivo avaliar o uso de *Bacillus thuringiensis* (Bt) de forma sistêmica em plantas de mogno para o controle de *H. grandella*. Para isso, foram utilizadas cinco estirpes escolhidas com base em ensaios preliminares de controle, onde todas causaram 100% de mortalidade em larvas recém-eclodidas, quando misturadas com sementes de mogno. No intuito de verificar o efeito sistêmico em mudas de mogno, a bactéria foi misturada com água destilada autoclavada e a solução foi inoculada via solo na concentração de  $10^8$  esporos por mL, para cada tratamento. A testemunha consistiu de água destilada autoclavada sem bactéria. Para cada tratamento foram utilizadas seis mudas, e, em cada muda, foram colocados três ovos de *H. grandella* com 48 horas de idade. Portanto, foram utilizadas 36 mudas, dispostas em delineamento inteiramente casualizado, com 108 ovos de *H. grandella* no total. Após 30 dias, os parâmetros avaliados foram: presença ou ausência de goma, teia e excrementos, tamanho da galeria formada pelo inseto e o número de lagartas vivas/mortas no interior das plantas. Como resultado, as plantas tratadas com a estirpe S1905 apresentaram um ataque desacelerado em comparação com a testemunha, com sintomas e danos pouco aparentes, caracterizados por pouca exsudação de goma e pouca presença de excrementos e teia por parte do inseto. Foram encontradas, no total, quatro lagartas mortas no interior das plantas inoculadas com essa estirpe. Todas as outras estirpes utilizadas apresentaram diferentes graus de controle e efeito sobre o inseto. As plantas sem tratamento com Bt se mostraram completamente atacadas, com até três lagartas em seu interior, além de apresentarem as maiores galerias (até 15,7 cm de comprimento). Este trabalho é pioneiro no uso sistêmico de Bt em mudas arbóreas e esse método parece ser uma alternativa promissora e viável ao uso de inseticidas químicos. Apesar de ser um estudo preliminar, os resultados obtidos abrem um seguimento ainda inexplorado na área florestal e que, futuramente, pode se tornar um dos principais métodos para o controle de insetos-praga, sobretudo com o uso de microrganismos sistêmicos.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

---

<sup>1</sup> Agronomia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Fitopatologia, , doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## DETECÇÃO DE DOIS ENDORNAVÍRUS EM GENÓTIPOS DE FEIJÃO NO BRASIL

Ribeiro, G.C.<sup>1</sup>; Alves-Freitas, D.M.T.<sup>2</sup>; Matos, V.O.R.L.<sup>3</sup>; Faria, J.C.<sup>4</sup>; Ribeiro, S.G.<sup>5</sup>

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) é uma importante fonte de proteínas e é uma das principais leguminosas consumidas no mundo. O Brasil é o terceiro maior produtor de feijão, com diferentes cultivares plantadas e consumidas em todo o país. Patógenos virais desempenham um papel significativo na redução da produtividade e da qualidade da cultura. No entanto, alguns vírus podem desempenhar um papel importante e benéfico nas plantas dando tolerância a planta sem causar dano aparente. Endornaviruses (*Endornaviridae*) são vírus persistentes que infectam importantes culturas como a pimentão, arroz e feijão. No entanto, esses vírus são pouco estudados, especialmente no Brasil. O objetivo deste trabalho foi investigar a ocorrência de dois endornavírus, *Phaseolus vulgaris* endornavirus-1 (PvEV-1) e *Phaseolus vulgaris* endornavirus-2 (PvEV-2) em diferentes genótipos de feijão cultivados no Brasil. Foram selecionados quarenta e cinco genótipos de feijão incluindo cultivares brasileiras (25) e linhagens (17) de banco de germoplasma da Embrapa e três acessos do cultivar referência para endornavírus 'Black TurtleSoup'. As sementes foram germinadas e os ácidos nucleicos totais foram extraídos a partir das primeiras folhas verdadeiras, utilizando o protocolo de STE-fenol. RT-PCR foi realizado utilizando SuperScript® III One-Step RT-PCR Kit (Invitrogen) com primers para detectar ambos os endornavírus simultaneamente (duplex). Os tamanhos dos produtos da PCR específico para cada vírus foram avaliados em electroforese em gel de agarose a 1,5%. Com base nos resultados de electroforese, endornavírus PvEV-1 e PvEV-2 estavam presentes em alta frequência. Oitenta por cento dos genótipos testados continham pelo menos um dos dois endornavírus. PvEV-1 foi mais frequente e foi observada em 80% dos genótipos testados. Em contraste, PvEV-2 foi detectada em 40% e em infecção mista com PvEV-1. Infecção só com PvEV-2 não foi observado. Apenas 20% dos genótipos de feijão foram livres de endornavírus. Caracterização molecular e análise filogenética serão realizadas nas próximas etapas.

Apoio: Embrapa, CNPq, FAP-DF, Rede Estece e INCTIPP.

---

<sup>1</sup> Biotecnologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Virologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Virologia, Ph.D., Embrapa Arroz e Feijão

<sup>5</sup> Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## DETECÇÃO ESPECÍFICA DE CINCO BEGOMOVÍRUS EM FEIJOEIRO E PLANTAS DANINHAS NO ESTADO DE PERNAMBUCO

Matos, V.O.R.L.<sup>1</sup>; Lamas, N.S.<sup>2</sup>; Alves-Freitas, D.M.T.<sup>3</sup>; Ribeiro, S.G.<sup>4</sup>

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma cultura economicamente importante no Brasil, porém patógenos como os begomovírus podem causar até 100% de perdas. Begomovírus também estão associados a plantas daninhas, que podem atuar como fontes de inóculo para plantas cultivadas. Estudos preliminares demonstraram presença de begomovírus em plantas de feijão, *Macroptilium* sp., *Sida* sp., *Desmodium glabrum*, *Blainvillea rhomboidea*, *Rhyncosia minima* e *Euphorbia heterophylla* na região de Caruaru, Arcoverde e Ibimirim em Pernambuco pelo uso de primers universais que amplificam genoma viral. Este trabalho teve por objetivo a detecção específica de cinco begomovírus nas mesmas amostras: Bean Golden mosaic virus (BGMV), *Macroptilium* yellow spot virus (MaYSV), *Macroptilium* yellow net virus (MaYNV), Tomato bright yellow mosaic virus (ToBrYMV) e *Sida* yellow blotch virus (SiYBV). O DNA das plantas previamente identificadas com infecção por begomovírus foi submetido a reações de RCA e enviado para Sequenciamento de Nova Geração em pools separados de plantas daninhas e feijoeiros e por seu local de coleta. Para diagnose específica de todos os vírus via PCR, os primers específicos foram desenhados baseados em dados gerados por NGS e o primer para BGMV obtido da literatura. Constatou-se que, nas três localidades, todas as plantas de feijão estavam infectadas com MaYSV. Em Caruaru também foi verificada a presença deste vírus em *Macroptilium* sp., *Desmodium glabrum* e apenas um feijoeiro apresentou infecção mista com BGMV. Nesta região, MaYSV foi relatado pela primeira vez em *Blainvillea rhomboidea* numa infecção mista com *Blainvillea* yellow spot virus. Em Arcoverde, o único vírus detectado foi MaYSV tanto em feijoeiros quanto em plantas de *Macroptilium* spp. Já em Ibimirim, além de MaYSV, foram encontradas duas plantas de feijão infectadas também por MaYNV, sendo este seu primeiro registro em *Phaseolus vulgaris*. MaYNV foi detectado também nas plantas de *Rhyncosia minima*, em infecção mista com o vírus ToBrYMV. Três amostras de *Sida* sp. nesta localidade foram positivas para SiYBMV. Tais resultados confirmam elevada incidência de MaYSV que neste estudo chega a 92% de amostras infectadas entre plantas daninhas e de feijão sugerindo fluxo de infecção entre elas. Infecções mistas observadas trazem nova perspectiva ao estudo e desenvolvimento de plantas de feijoeiro resistentes a begomovírus.

---

<sup>1</sup> Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Molecular, mestrado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista CNPq

<sup>3</sup> Virologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE SINÉRGICA DE TOXINAS DE *Bacillus thuringiensis* PARA *Aedes aegypti***

Almeida, Z.G.<sup>1</sup>; Martins, E.S.<sup>2</sup>; Monnerat, R.G.<sup>3</sup>

O aumento da infestação de populações de *Aedes aegypti* nos centros urbanos brasileiros se deve a seleção de populações resistentes aos inseticidas químicos utilizados para seu controle, o que levou, em meados do ano de 2000, aos primeiros casos de substituição do inseticida Temephós® por larvicidas biológicos à base de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), em localidades onde foram identificadas populações resistentes do mosquito. Tem sido sugerido que as misturas de diversas toxinas podem ser funcionalmente mais eficazes do que as toxinas isoladas. Este estudo teve por objetivo avaliar se há sinergismo entre as toxinas de Bti para *A. aegypti*. Os bioensaios foram realizados em duplicata e em copos plástico contendo um n total de 75 larvas de 2º ou 3º ínstar de *A. aegypti* em uma suspensão de esporos/cristais para as cinco estirpes que expressam as toxinas Cry4A, Cry4B, Cry11, Cry10 e Cyt1A. Foi avaliado a atividade sinérgica e o fator de sinergismo. A combinação das toxinas Cry10+Cyt1A apresentou um fator de sinergismo de 2,6 vezes, Cry10+Cry11 e Cry10+Cry4A apresentaram fator e sinergismo 2,0. Combinações com Cry4B+Cry10, Cry4A+Cry4B, Cry4A+Cyt1A e Cry4B+Cyt1A também foram sinérgicas (1,7; 1,2; 1,0 e 1,0, respectivamente). Este trabalho é o primeiro relato de que a toxina Cry10 é capaz de agir sinergisticamente com outras toxinas Cry e com a toxina Cyt1A. As toxinas individuais de Bti quando combinadas possuem ação sinérgica o que torna a ação desta bactéria, para o controle biológico, muito eficaz e com uma menor probabilidade de seleção de resistentes.

Apoio: Embrapa e CNPq (PIBIC).

---

<sup>1</sup> Biomedicina, graduação, Faculdades Integradas Promove de Brasília- Icesp

<sup>2</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Matogrossense do Algodão

<sup>3</sup> Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



## DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES EM COGUMELOS DA COLEÇÃO DA EMBRAPA E DE PRODUTORES RURAIS

Cavalcante, R.S.<sup>1</sup>; Magarelli, G.<sup>2</sup>; Polez, V.L.P.<sup>3</sup>; Urban, A.F.<sup>4</sup>; Castro, C.S.P.<sup>2</sup>

Os cogumelos produzem compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonóides) a partir do seu metabolismo secundário, que podem servir como marcadores de qualidade, pois conferem aos cogumelos alta capacidade antioxidante. O trabalho teve como objetivo utilizar métodos voltamétricos validados para a avaliação da capacidade antioxidante e determinação de compostos fenólicos totais em amostras de cogumelos (corpo frutífero e micélios) da coleção da Embrapa e de produtores rurais. O preparo das amostras de cogumelos foi realizado por meio de: extração metanólica (2 - 4 mL de metanol a 25%) de 0,1 g do corpo frutífero do cogumelo (seco em estufa e pulverizado) e 0,1-0,2 g do micélio (liofilizado); extração em ultrassom por 3 h; centrifugação do extrato por 10 min. a 13.000 rpm; análise do sobrenadante. As medidas voltamétricas foram realizadas utilizando-se um potenciostato/galvanostato, acoplado a uma célula eletroquímica composta por: eletrodo de trabalho (carbono vítreo), eletrodo de referência (Ag/AgCl) e eletrodo auxiliar (platina). As condições eletroquímicas de análise adotadas foram: tampão fosfato, pH 4,0, amplitude de pulso de 50 mV e velocidade de varredura de 50 mVs<sup>-1</sup>. A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada por adição do padrão ácido p-cumárico, cujos picos de corrente de oxidação, (0,2V, 0,5 V e 0,7V), coincidiram com os picos de oxidação de todas as amostras. As faixas de concentrações de compostos fenólicos totais encontradas foram: Cenargen: *Ganoderma lucidum* (0,2-1,4 mg g<sup>-1</sup>); *Pleurotus ostreatus* (3,1-14 mg g<sup>-1</sup>); *Auricularia auricula* (0,8-4,0 mg g<sup>-1</sup>); *Flammulina velutipes* (6,5-50 mg g<sup>-1</sup>). PRODUTOR: *Ganoderma lucidum* (0,38-0,41 mg g<sup>-1</sup>); *Pleurotus ostreatus* (1,3-15 mg g<sup>-1</sup>); *Agaricus blazei* (1,0-4,8 mg g<sup>-1</sup>). Como todos os cogumelos apresentaram perfil voltamétrico muito semelhante, concluiu-se que a espécie *Flammulina velutipes* possui a maior capacidade antioxidante, por apresentar as maiores concentrações de compostos fenólicos totais. Para os micélios, as faixas de concentrações de compostos fenólicos totais encontradas foram: *Pleurotus ostreatus* (1,0-15 mg g<sup>-1</sup>), *Ganoderma lucidum* (3,0-9,0 mg g<sup>-1</sup>), *Auricularia auricula* (1,0-20 mg g<sup>-1</sup>) e *Flammulina velutipes* (1,0-3,0 mg g<sup>-1</sup>). Na maioria dos casos, em condições controle (pH ácido e 28°C), foram encontradas maiores quantidades de compostos fenólicos nos micélios. Assim o método voltamétrico foi eficiente para a determinação de compostos fenólicos e avaliação da capacidade antioxidante nos cogumelos, resultando na agregação de valor aos macrofungos quanto às suas propriedades antioxidantes.

Apoio: Embrapa, CNPq (PIBIC), Cogumelos Amazônia e Brasmicel.

<sup>1</sup> Ciências Naturais, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Química Analítica, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Micologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## DIVERSIDADE DE BEGOMOVÍRUS NO VETOR MOSCA BRANCA (*Bemisia tabaci*) E PLANTAS HOSPEDEIRAS

Fontenele, R.S.<sup>1</sup>; Costa, L.C.<sup>2</sup>; Lamas, N.S.<sup>1</sup>; Sanches, M.M.<sup>3</sup>; Campos, M.A.<sup>4</sup>; Ribeiro, S.G.<sup>5</sup>

Begomovírus (família *Geminiviridae*) são transmitidos pela mosca branca (*Bemisia tabaci*) e causam doenças graves em várias culturas de importância econômica, podendo também infectar plantas daninhas e silvestres. Seus genomas podem ser monopartidos ou bipartidos compostos por DNA de fita simples conhecidos como DNA-A e DNA-B. A diversidade de begomovírus presentes em plantas hospedeiras tem sido amplamente estudada, no entanto, informações sobre a diversidade encontrada no vetor *Bemisia tabaci* são escassas. Moscas brancas foram coletadas em plantas do Distrito Federal e Paraíba. O DNA total foi extraído das amostras de moscas brancas e o DNA viral foi amplificado por RCA (amplificação por círculo rolante), utilizando a enzima Phi-29 DNA polimerase. A presença de begomovírus foi confirmada por PCR a partir do RCA. Os produtos de PCR foram clonados e sequenciados. Baseado na sequência parcial do vírus, foram desenhados primers sobrepostos para amplificação total do DNA-A nas amostras de mosca branca e também nas plantas onde os vetores foram coletados. O DNA-A completo foi clonado e sequenciado, confirmando os dados obtidos pelas sequências parciais. A sequência completa do DNA-A encontrado nas moscas brancas coletadas nas plantas do Distrito Federal (*Bidens pilosa*, *Crepis japonica*, *Jatropha podagrica* e *Solanum melongena*) foi identificado como Bean golden mosaic virus (BGMV). *Sida micrantha* mosaic virus (SiMMV) foi identificado nas moscas brancas coletadas em *Emilia sonchifolia* do Distrito Federal. Dois begomovírus foram identificados nas moscas brancas coletadas em algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) na Paraíba. O sequenciamento do DNA-A mostrou a presença de *Corchorus mottle virus* (CoMoV) e *Sida yellow blotch virus* (SiYBV). Os begomovírus encontrados nas moscas-brancas não foram identificados nas respectivas plantas de coleta. Esse resultado indica que os begomovírus provavelmente estavam presentes em outros hospedeiros da área, destacando a importância de se estudar a diversidade de vírus de plantas presentes nos vetores. Esse estudo se torna um método de monitoramento da diversidade viral em uma determinada área que pode, eventualmente, prever o surgimento de novas doenças virais de importância agrícola.

Apoio: Embrapa, CNPq e FAP-DF.

<sup>1</sup> Biologia Molecular, mestrado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista CNPq

<sup>2</sup> Ciências Naturais e Biotecnologia, M.Sc., Universidade Federal de Campina Grande-UFCG

<sup>3</sup> Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Universidade Federal de Campina Grande-UFCG

<sup>5</sup> Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## EFICIÊNCIA DE PRODUTOS BIOLÓGICOS COMERCIAIS A BASE DE *Bacillus* sp. NO BIOCONTROLE DE *Meloidogyne incognita* RAÇA 3 DO ALGODOEIRO (*Gossypium hirsutum* L.) EM CASA DE VEGETAÇÃO

Montalvão, S.C.L.<sup>1</sup>; Castro, M.T.<sup>2</sup>; Soares, C.M.S.<sup>3</sup>; Carneiro, R.M.D.G.<sup>4</sup>; Blum, L.E.B.<sup>5</sup>; Monnerat, R.G.<sup>6</sup>

O algodoeiro é uma das espécies vegetais mais cultivadas no mundo, com cerca de 35 milhões de hectares plantados, área essa distribuída por mais de sessenta países. No Brasil, a cotonicultura tem destaque, ocupando o quinto lugar entre os produtores mundiais e terceiro maior exportador. Este nicho da cadeia produtiva só não é mais rentável, devido à existência de alguns fatores que limitam a produtividade da cultura, como o surgimento de doenças. Entre elas temos a meloidoginose do algodoeiro, que tem como agente causal o *Meloidogyne incognita* raças 3 e 4. Esses nematóides podem em condições de alta infestação causar prejuízos superiores a 40 % à cultura. Para seu controle, vários métodos podem ser recomendados, e o uso de Bactérias do gênero *Bacillus* são reconhecidamente bioreguladoras e antagonistas naturais de vários fitopatógenos. Encontram-se hoje disponíveis no mercado, inúmeros produtos a base desses organismos com recomendações no controle de fitonematóides, entretanto a eficácia dos mesmos tem sido bastante questionada pelos agricultores. Assim, o objetivo desse trabalho foi testar a eficácia de cinco produtos biológicos comerciais a base de *Bacillus* no controle de *M. incognita* raça 3 do algodoeiro em casa de vegetação. Para isso um experimento foi montado em DIC (delineamento inteiramente casualizado) com quatorze tratamentos e seis repetições por tratamento. Após a aplicação dos produtos, as plantas foram observadas por 200 dias. Neste ensaio foram avaliados a altura de plantas, o peso de matéria fresca e seca da parte aérea e raiz de plantas, o peso de matéria fresca da raiz de plantas, o peso de matéria seca de raiz e o fator de reprodução do nematóide. Como resultado, houve uma melhor resposta inicial no crescimento das plantas tratadas com os agentes biológicos em comparação com a testemunha e com o tratamento químico. Os produtos à base de *B. subtilis*, *B. amyloliquefasciens* e *B. subtilis* + *B. lincheniformis* apresentaram melhores resultados em peso de matéria fresca de parte aérea quando comparado à testemunha nos ensaios com nematóide. No quesito peso seco de parte aérea, os tratamentos com produtos à base de *B. methylotrophicus* e *B. subtilis* foram superiores a testemunha, neste mesmo ensaio o produto químico mostrou-se inferior a testemunha. Nos quesitos peso seco de raiz sem nematóide e fator de reprodução, o tratamento com o produto à base de *B. methylotrophicus* novamente se destacou. Conclui-se a partir dos resultados apresentados, que a utilização de produtos biológicos podem ser efetivos no controle de *M. incognita*, tornando-se mais uma ferramenta a ser utilizada no manejo desse importante patógeno da cultura do algodão.

Apoio: Cenargen, IMAmt, Capes e CNPq.

<sup>1</sup> Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Agronomia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Entomologista, Ph.D., Instituto Mato-grossense do Algodão

<sup>4</sup> Nematologista, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Fitopatologia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>6</sup> Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## ESTUDO DE VARIAÇÃO GENÔMICA EM *Pseudoplusia includens* SNPV

Craveiro, S.R.<sup>1</sup>; Santos, L.A.V.M.<sup>2</sup>; Togawa, R.C.<sup>3</sup>; Grynberg, P.<sup>3</sup>; Ribeiro, Z.M.A.<sup>4</sup>; Inglis, P.W.<sup>5</sup>; Castro, M.E.B.<sup>6</sup>

*Pseudoplusia includens* single nucleopolyhedrovirus (PsinSNPV) é um baculovírus patogênico a larva *Pseudoplusia includens*, uma praga agrícola que desde 2001/2002 vem causando grandes danos nas culturas de soja, algodão, feijão, tabaco e outras. Prévios estudos realizados por esse mesmo grupo de pesquisa relatam a presença de diversidade genética entre sete isolados de PsinSNPV (IA a IG) coletados em plantações de soja e algodão no Brasil e Guatemala sugerindo a realização de uma investigação mais detalhada quanto as possíveis variações genéticas ocorridas no genomas destes isolados. Assim, um dos isolados PsinSNPV-IE, considerado um dos mais virulentos entre os sete isolados, foi sequenciado e seu genoma completo depositado no banco de dados *GenBank*. Em prosseguimento e como principal objetivo do presente trabalho, os outros seis isolados de PsinSNPV foram sequenciados, utilizando abordagem 454 (Roche), para investigar as variações genéticas e estruturais entre os isolados e dentro de um mesmo isolado de PsinSNPV. As leituras (*reads*) obtidas do sequenciamento individual dos isolados foram usadas para a montagem do genoma utilizando os programas Newbler, MIRA e Celera. Os *contigs* obtidos apresentaram tamanho aproximado de 140 kpb, similar ao tamanho do genoma de PsinSNPV-IE. A anotação dos genomas, utilizando o programa Geneious v.6.0, está sendo finalizada para detecção da existência de diferentes genes entre os genomas e a presença de polimorfismos de base única (*single nucleotide polymorphism*) no grupo de genes conservados entre os baculovírus, os *core genes*. Os genes que apresentarem maior diversidade nucleotídica serão investigados quanto às mutações não sinônimas. A diversidade genética é comumente encontrada em isolados virais de campo e são importantes na busca de baculovírus com potencial no controle de insetos-praga. A caracterização da diversidade que ocorre em todo o genoma auxiliará no entendimento dos processos biológicos diferenciados que causam as variações fenotípicas observadas entre os isolados de PsinSNPV.

Apoio: Embrapa, UnB, PRONEX/FAP-DF, CNPq e Capes.

---

<sup>1</sup> Biologia Molecular, doutorado, , Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Ciências Biológicas, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>3</sup> Bioinformática, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Fitopatologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Genética Molecular, Ph.D., Pesq. Visitante, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup> Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## EXPLORANDO O USO DO GENE CITOCROMO C OXIDASE I PARA A IDENTIFICAÇÃO DE FITONEMATÓIDES

Rodrigues, L.S.<sup>1</sup>; Mendonça, R.S.<sup>2</sup>; Santos, M.D.M.<sup>3</sup>; Gonzaga, V.<sup>4</sup>

A identificação específica de nematóides baseada em caracteres morfométricos é uma atividade complexa. O tamanho diminuto e a escassez de caracteres marcantes dificulta a observação desses organismos em microscopia óptica convencional e estão entre os fatores que tornam essa atividade desafiadora. Os marcadores genéticos podem auxiliar na resolução desses problemas. A maioria dos fragmentos amplificados por PCR e sequenciados para o diagnóstico molecular de nematóides estão localizados na região do DNA ribossômico nuclear e utilizam fragmentos dos genes 18S, 28S e 5,8S além das regiões ITS1 e ITS2. Em contraste, fragmentos do gene mitocondrial foram menos explorados. Nesse contexto, a ideia foi utilizar um fragmento específico do gene *COI*, *Citocromo c oxidase I*, (mtDNA) que se tornou a região padrão do código de barras da vida para a maioria dos animais. Esse fragmento foi estabelecido por Herbert *et al.* (2003) para constituir um sistema de identificação global de animais baseado nos estudos de Folmer *et al.* (1994) que desenharam um par de *primers* universal para a região *COI*, o qual possibilitou a amplificação de DNA de mais de 80 espécies de 11 diferentes filos de invertebrados, incluindo Arthropoda e Nematoda. Assim, foi investigada a amplificação desse fragmento para duas espécies de fitonematóides, *Ditylenchus dipsaci* e *Pratylenchus zea*, previamente identificadas pelo método molecular, com marcadores nucleares e morfométrico. A extração do DNA genômico foi realizada a partir de um único indivíduo inteiro com o kit DNeasy Qiagen. O fragmento do gene *COI* foi amplificado com os oligonucleotídeos universais LCO1490 e HCO2198. O resultado da eletroforese foi positivo e bandas bem definidas de aproximadamente 690 pb foram amplificadas em gel de agarose para as duas espécies estudadas. O DNA foi enviado para o sequenciamento direto e os resultados estão sendo aguardados para confirmação da região amplificada. A definição de *loci* adicionais localizados em regiões diferentes do genoma é fortemente recomendada para fins de diagnóstico molecular de espécies. Assim, o estabelecimento de protocolo para amplificação e sequenciamento de rotina do gene *COI* fornece uma ferramenta extra que agrega confiabilidade aos resultados obtidos com sequências das regiões do DNA nuclear na confirmação de espécies.

Apoio: Embrapa.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

<sup>2</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Consultor, Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Fitopatologia, FUNAPE Fundação de Apoio a Pesquisa-UFG

<sup>4</sup> Nematologia, Ph.D., Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia

## EXTRATOS E FRAÇÕES AQUOSAS DE SEMENTES DE PLANTAS DA FAMÍLIA SOLANACEAE EFETIVO NO CONTROLE DE *Meloidogyne incognita*

Ferreira, P.D.S.<sup>1</sup>; Silveiro, B.C.<sup>2</sup>; Rocha, T.L.<sup>3</sup>

Os nematóides das galhas são considerados um dos principais responsáveis pelas grandes perdas na produção agrícola mundial, causando prejuízos da ordem de milhões de dólares anuais. A espécie *Meloidogyne incognita* se destaca por parasitar diversas culturas de interesse econômico, promovendo a alteração do sistema radicular por meio da formação de nodulações nas raízes que impedem a absorção adequada dos nutrientes do solo. A alternativa mais explorada para o controle desse organismo está centrada na utilização massiva de nematicidas sintéticos que podem acarretar diversos danos para o meio ambiente e para a saúde humana. Atualmente, observa-se uma tendência mundial na busca por estratégias alternativas ambientalmente seguras. Neste âmbito, pesquisas têm sido desenvolvidas com foco na obtenção de produtos de controle mais sustentáveis. Assim, esse estudo tem por objetivo prospectar extratos aquosos provenientes de sementes de 3 espécies de plantas da família Solanaceae, avaliando sua atividade nematotóxica (nematicida e/ou nematostática) sobre juvenis de segundo estágio (J2) de *M. incognita*. Nesse contexto, foram realizados bioensaios contendo J2 para constatar o efeito dos extratos em diferentes concentrações (100, 300, 500 e 1000 µg.mL<sup>-1</sup>). Posteriormente, os J2 paralisados foram submetidos a ensaios de recuperação para certificação da atividade nematotóxica. Os extratos efetivos no controle de J2 foram fracionados via diálise utilizando membrana com poros de 3,5kDa, permitindo a obtenção dos dializados externo (DE) e interno (DI). Adicionalmente foram conduzidos testes para determinar a especificidade, termoestabilidade, e a citotoxicidade das frações que exibiram atividade no controle de *M. incognita*. Os resultados demonstraram que todos os extratos aquosos (A, B e C) paralisaram 100% dos indivíduos para a concentração de 1 mg.mL<sup>-1</sup> após 48 horas de exposição. Os ensaios de recuperação apresentaram resultados promissores, tendo um efeito nematicida de 89% para a espécie (A) e 69% para as espécies (B e C). Os bioensaios utilizando DE e DI (500 µg/300µL) da planta (A) paralisaram acima de 90% dos J2 após 48 horas de exposição. No teste de recuperação o DE e o DI apresentaram efeito nematicida e nematostático de 90% respectivamente. Vale acrescentar que quando testado em *Escherichia coli* (500µg/900µL), o DE demonstrou baixa toxicidade com 80% das bactérias permanecendo vivas, além de também apresentar ausência de atividade hemolítica quando testada em eritrócitos bovinos nas concentrações de 125µg, 250µg e 500µg. O DE (500 µg/300µL) apresentou termoestabilidade após ser encubado em banho Maria a 50°C durante 24 horas matando 90% dos J2. Esses resultados demonstram a potencialidade desses extratos e frações no controle de fitonematóides.

Apoio: Embrapa e CNPq (PIBIC).

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Centro de Ensino Unificado do Distrito Federal-UDF

<sup>2</sup> Biomedicina, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>3</sup> Metabolômica de plantas, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## EVOLUÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE DE *Helicoverpa armigera* HÜBNER EM CAMPO À PROTEÍNAS Bt – SAFRA DE MILHO 2014/2015

Tomazette, M.R.<sup>1</sup>; Cavalin, E.K.<sup>1</sup>; Monnerat, L.G.<sup>2</sup>; Saraiva, J.<sup>1</sup>; Eckstein, B.<sup>3</sup>; Moraes, S.V.<sup>4</sup>; Monnerat, R.G.<sup>5</sup>

A praga agrícola *Helicoverpa armigera*, foi detectada no Brasil na safra 2012/2013. O inseto, que é polífago, tem causado prejuízo em diversas culturas, como tomate, algodão, milho e soja. Atualmente uma das formas de controle de insetos-praga na cultura do milho é o uso variedades transgênicas, denominado milho Bt. Estas plantas contêm genes *cry*, oriundos da bactéria *Bacillus thuringiensis*, com atividade inseticida. O uso intensivo de variedades de milho Bt, no entanto, gerou pressão de seleção em populações de *Spodoptera frugiperda* (lagarta do cartucho), resultando em menor suscetibilidade às toxinas presentes nas plantas Bt. O Laboratório de Bactérias Entomopatogênicas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia testou a suscetibilidade de uma população de *H. armigera* que não havia sido exposta à toxinas Bt (população padrão) e verificou que ela é suscetível à várias proteínas presentes em plantas Bt no Brasil. No entanto, é importante realizar o monitoramento periódico da suscetibilidade da espécie presente nos cultivos de milho no País, para verificar se ela está desenvolvendo resistência ou não às toxina utilizada no seu controle. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi verificar a susceptibilidade de uma população de *Helicoverpa armigera* coletada em campos de cultivo de milho Bt e convencional no Estado da Bahia, Safra 2014/2015 às proteínas Bt Cry1Ab, Cry1Ac e Cry1F. Para tal, lagartas de segundo instar da primeira geração obtida em laboratório foram submetidas à bioensaios com dieta contendo as proteínas purificadas. Para cada proteína foram testadas 10 concentrações da toxina, entre 200 e 2ng.cm<sup>2</sup>. Após 2 e 7 dias a taxa de mortalidade das lagartas foi avaliada. Para as 3 proteínas testadas, a mortalidade foi maior que 50% para a concentração mais baixa, de 2ng.cm<sup>2</sup>. No tratamento controle (sem proteína), a mortalidade foi de apenas 8%. Os resultados mostraram que as lagartas continuam altamente suscetíveis às toxinas Bt presentes em plantas transgênicas, demonstrando que proteínas Bt são uma ferramenta de controle dessa praga. O Laboratório de Bactérias Entomopatogênicas da Embrapa continuará realizando tal monitoramento visando gerar subsídios para o delineamento de estratégias de controle da praga.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, bolsista CNPq

<sup>2</sup> Agronomia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Fitopatologia, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Entomologia, Ph.D., Embrapa Cerrados

<sup>5</sup> Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## FUNGOS INTERCEPTADOS PELA ESTAÇÃO QUARENTENÁRIA VEGETAL NÍVEL 1 DA EMBRAPA EM 2014 E 2015

Nascimento, F.B.<sup>1</sup>; Mendes, M.A.S.<sup>2</sup>; Urban, A.F.<sup>3</sup>; Mattos, F.L.F.<sup>4</sup>; Lima, L.S.<sup>5</sup>

Os programas nacionais de melhoramento dependem da doação de variabilidade genética (acessos). Visando minimizar os riscos de introdução de pragas quarentenárias a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia realiza quarentena de todo germoplasma vegetal introduzido destinado ao Sistema Nacional de Pesquisa Agrícola. No período janeiro de 2014 a maio de 2015 foram analisados 8.406 acessos, pertencentes a mais de 36 espécies diferentes, na Estação Quarentenária Vegetal Nível 1 (EQVN1). O presente trabalho teve por objetivo relatar os procedimentos para a interceptação de fungos exóticos. Os métodos utilizados para a detecção de fungos foram: exame direto, plaqueamento em papel de filtro, plaqueamento em meio de cultura BDA e lavagem-sedimentação. A identificação dos fungos foi realizada pelas características morfológicas e fisiológicas. Durante este período foram identificadas diversas espécies de fungos presentes no Brasil, sendo *Colletotrichum gloeosporioides* o maior risco de introdução de isolado exótico. Este fungo, amplamente distribuído no país, não tem relato causando danos em plântulas de soja. No mesmo germoplasma também foram isolados *Colletotrichum truncatum*, *Cercospora kikuchii*, *Cercospora canescens* e *Fusarium oxysporum*, que possuem relatos de variabilidade genética. As ações do EQVN1 proporcionaram o enriquecimento dos recursos genéticos para o Brasil, impedindo a entrada de isolados exóticos.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação Faculdade Anhanguera de Brasília-FAB

<sup>2</sup> Fitopatologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Micologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biologia, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Biologia, graduação, Faculdade Anhanguera de Brasília-FAB



**IDENTIFICAÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER TÓXICAS PARA *Spodoptera frugiperda* J. E. SMITH (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE), *Helicoverpa armigera* HÜBNER (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E *Anticarsia gemmatilis* HÜBNER (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Tomazette, M.R.<sup>1</sup>; Caixeta, C.F.<sup>2</sup>; Cavallin, E.K.<sup>1</sup>; Saraiva, J.<sup>1</sup>; Georgen, L.M.<sup>3</sup>; Scarabuci, L.T.<sup>4</sup>; Damaceno, N.B.<sup>5</sup>; Almeida, Z.<sup>6</sup>; Martins, E.S.<sup>7</sup>; Praça, L.B.<sup>8</sup>; Eckstein, B.<sup>9</sup>; Monnerat, R.G.<sup>10</sup>

Uma parcela considerável das safras de alimentos do mundo é perdida devido ao ataque de insetos, cujo controle é efetuado através da utilização de inseticidas químicos. Esses produtos, além de poluírem o meio ambiente, causam desequilíbrio ecológico e promovem a seleção de insetos resistentes. A crescente conscientização da população para os danos causados por esses produtos fez crescer o interesse por agentes biológicos para controle de insetos-praga. Dentre os bioinseticidas mais utilizados, destacam-se aqueles à base da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt), eficaz para o controle biológico de insetos, de baixo impacto ambiental e seguro aos seres vivos. O objetivo deste trabalho foi identificar estirpes de Bt presentes na Coleção de Bactérias de Invertebrados da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, tóxicas a lagartas. Para tal, 117 estirpes foram cultivadas até completa esporulação e testadas contra populações de lepidópteros das espécies *Helicoverpa armigera*, *Anticarsia gemmatilis* e *Spodoptera frugiperda* (resistente à proteína Cry1F). As estirpes que causaram mortalidade abaixo de 50% não foram consideradas tóxicas. Sete estirpes de Bt causaram 100% de mortalidade de larvas de *Spodoptera frugiperda*, 25 mataram 100% das larvas de *Helicoverpa armigera* e 6 mataram 100% das larvas de *Anticarsia gemmatilis*. Três estirpes são tóxicas para as 3 espécies o que abre ótimas perspectivas para o desenvolvimento de bioinseticidas para o controle de mais de uma praga

Apoio: Embrapa, CNPq e Capes.

<sup>1</sup> Biologia, graduação, bolsista CNPq

<sup>2</sup> Agronomia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Agronomia, graduação, , Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Biologia, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>5</sup> Biomedicina, graduação, Fundação Eliseu Alves

<sup>6</sup> Biomédica, graduação, bolsista CNPq

<sup>7</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão

<sup>8</sup> Agronomia, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>9</sup> Fitopatologia, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>10</sup> Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## ISOLAMENTO DE FUNGOS DO GÊNERO *Trichoderma* CONSIDERANDO O TEMPO DE ARMAZENAMENTO DE SOLOS EM DIFERENTES TEMPERATURAS

Paula, A.R.<sup>1</sup>; Silva, J.B.T.<sup>2</sup>; Mello, S.C.M.<sup>3</sup>

Fungos do gênero *Trichoderma* vêm sendo estudados e utilizados como agentes de biocontrole de doenças de plantas. Entre as diversas espécies desse fungo, são identificados também isolados que atuam como promotores de crescimento e indutores de resistência de plantas a doenças. Esses fungos ocorrem nos mais diversos tipos de solo e ecossistemas. São facilmente recuperados a partir de amostras de solo e prontamente cultiváveis em meios artificiais, apresentando crescimento rápido e esporulação profusa. Entretanto, pela intensidade das pesquisas com *Trichoderma*, há necessidade de verificar o período de tempo e temperatura mais favoráveis para armazenamento das amostras de solo coletado da rizosfera de plantas, do modo a se obter número razoável de colônias do fungo na ocasião do isolamento. Amostras de solo rizosférico de plantas de goiaba e caju foram coletadas em área de cerrado previamente demarcada e acondicionadas em sacos de polipropileno. Os sacos foram abertos e agitados diariamente para homogeneização das partículas, à temperatura ambiente (28°C) e umidade de 60%. Também foram armazenadas amostras em geladeira (10°C) e em congelador (-4°C), pelo mesmo período. Dez gramas do solo de cada amostra foram, então, colocados em Erlenmeyer contendo 90 mL de água estéril. Os frascos foram mantidos sob agitação a 200 rpm à temperatura de 25°C, por 40 minutos. Após diluições, 0,1 mL das suspensões a  $10^{-2}$  foram distribuídas e espalhadas em placas de Petri contendo meio de Martin. As culturas foram avaliadas diariamente até o aparecimento de colônia típica do gênero *Trichoderma*, cada colônia sendo considerada uma unidade formadora de colônia (UFC). À temperatura ambiente, o maior número de isolados de *Trichoderma* foi àquele proveniente de solos armazenados até quatro dias após a coleta, diminuindo esse número com o passar do tempo, independente da origem do solo. Quanto às amostras conservadas em geladeira e congelador, após 15 dias de armazenamento, obteve-se o mesmo n° de isolados de *Trichoderma* quanto aos dos solos conservados durante os primeiros dias à temperatura ambiente. Os resultados mostraram que o tempo de armazenamento do solo tem influência no número de colônias. As avaliações de armazenamento em geladeira e congelador terão continuidade para determinação do tempo máximo de armazenamento sem prejuízo no número de colônias obtido.

Apoio: Embrapa e CNPq (PIBIC).

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## MARCADORES MICROSSATÉLITES ASSOCIADOS A QTLs DE RESISTENCIA A *Meloidogyne incognita* RACA 3 EM *Gossypium barbadense*

Gomez, G.M.<sup>1</sup>; Moretzsohn, M.C.<sup>2</sup>; Giband, M.<sup>3</sup>; Silva, E.<sup>4</sup>; Silva, J.G.P.<sup>4</sup>; Furnaletto, C.<sup>5</sup>; Carneiro, R.M.D.G.<sup>6</sup>

Os objetivos foram identificar marcadores microssatélites associados com a resistência ao nematóide *Meloidogyne incognita* raça 3 e posicionar tais marcadores em cromossomos específicos em algodoeiro, visando seu uso para seleção assistida em programas de melhoramento do algodoeiro. Os genitores (*G. hirsutum*, acesso FM966, suscetível; e *G. barbadense*, acesso CIR1348, resistente) e uma população de 180 indivíduos F<sub>2</sub> foram avaliados para índice de galhas (IG), índice de massas de ovos (IMO) e fator de reprodução (FR). Um total de 262 marcadores microssatélites foram posicionados em um mapa genético de 29 grupos de ligação constituído por 284 locos polimórficos. O comprimento total do mapa foi de 4.294 cM, com uma distância média de 15,1 cM entre marcadores adjacentes. Para os caracteres IG e IMO, nenhum QTL significativo foi detectado. Porém, a análise de QTLs por intervalos compostos detectou duas regiões significativamente associadas com o fenótipo resistente para o caráter FR. Um dos QTLs está localizado no cromossomo 11 e ligado aos marcadores CIR069 e CIR316. Esses marcadores são também associados a um QTL de resistência a *M. incognita* raça 3 em acessos de algodoeiro herbáceo (*G. hirsutum*). O QTL no cromossomo 11 tem um efeito mais pronunciado na redução da produção de ovos, e age em conjunto com o segundo QTL para conferir a resistência ao acesso CIR1348.

Apoio: Embrapa e CNPq.

---

<sup>1</sup> Genética e Melhoramento de Plantas, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Biologia, bolsista CNPq

<sup>2</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Cirad Bios - UMR AGAP, Embrapa Algodão - Núcleo Cerrado

<sup>4</sup> Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup> Fitopatologia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>6</sup> Nematologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## PRIMEIRO RELATO DE *Meloidogyne konaensis* PARASITANDO PLANTAS HORTÍCULAS NO ESTADO DO CEARÁ

Monteiro, J.M.S.<sup>1</sup>; Cares, J.E.<sup>2</sup>; Gomes, A.C.M.M.<sup>3</sup>; Almeida, M.R.A.<sup>4</sup>; Silva, M.C.L.<sup>5</sup>; Santos, C.D.G.<sup>5</sup>; Carneiro, R.M.D.G.<sup>6</sup>

Em levantamento de *Meloidogyne* spp. em diferentes culturas de 11 municípios do estado do Ceará, através do método das isoenzimas, caracterizaram-se três populações originárias do repolho e mamão, que apresentaram um perfil de esterase diferente dos já detectados para outras espécies no Brasil. Uma população foi enviada para Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia para identificação da espécie. Estudos morfológicos mostraram características típicas de *M. konaensis*. Perineais semelhantes a *M. arenaria* e *M. incognita*, comprimento do estilete de 14-20 µm, bulbos que se fundem gradualmente com a haste do estilete e orifício da glândula esofágica dorsal (DEGO) medindo 4-7 µm são algumas características das fêmeas. Embora os machos sejam raros, a morfologia do estilete é o caráter mais usual na identificação da espécie, com 6-12 projeções grandes na haste. O padrão de esterase K3 é espécie específico com três bandas principais de Rm: 0,96, 1,03, 1,22 e uma banda secundária 1,15. A essa espécie tem sido atribuída mais de um perfil de esterase, F1 de *M. paranaensis* e I1 de *M. incognita* ou a mistura de ambos, em estudos realizados no Havaí (EUA). Marcadores Scar espécie específicos para essas espécies foram testados para *M. konaensis* e nenhuma amplificação foi observada. Outros estudos com hospedeiros diferenciadores, inclusive o cafeeiro estão sendo realizados para a caracterização da espécie e assinalar o seu primeiro relato no Brasil.

Apoio: Cenargen e CNPq/UnB.

---

<sup>1</sup> Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Nematologia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Ciências Agrárias, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Química, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Agronomia, Ph.D., Universidade Federal do Ceará

<sup>6</sup> Nematologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**PRIMEIRO RELATO DE *Sida micrantha* MOSAIC VIRUS EM *Oxalis* spp.**

Lamas, N.S.<sup>1</sup>; Ribeiro, G.C.<sup>2</sup>; Fontenele, R.S.<sup>1</sup>; Ribeiro, S.G.<sup>3</sup>

Begomoviroses causam danos devastadores em culturas de grande importância econômica como feijão, tomate, pimentão e soja. Os Begomovírus caracterizam-se por apresentar partículas geminadas com morfologia icosaédrica e seus genomas podem ser monopartidos ou bipartidos compostos por DNA de fita simples conhecidos como DNA-A e DNA-B, cada um com aproximadamente 2.600 nucleotídeos. Eles são transmitidos pela mosca branca (*Bemisia tabaci*) biótipo B, e infecções naturais destes vírus têm sido relatadas em plantas daninhas que podem funcionar como reservatórios desses vírus. Dessa forma, é importante avaliar a presença e a identidade dos vírus que infectam plantas daninhas. Os representantes do gênero *Oxalis* são encontrados em grande diversidade de ambientes, desde áreas abertas como lavouras e campos até florestas e em áreas antropizadas. Quatro amostras de *Oxalis* spp. apresentando sintoma do mosaico amarelo e deformação do limbo foliar foram coletadas em Londrina (PR) e em Brasília (DF). A partir do DNA total extraído das amostras, a infecção viral foi confirmada via PCR com oligonucleotídeos universais para detecção desses vírus, PAL1v1978 e PAR1c496. Os DNAs virais de cada amostra foram amplificados por RCA (amplificação por círculo rolante) utilizando a enzima *Phi*-29 DNA polymerase. A reação foi posteriormente digerida com as enzimas *Cl*I, *Eco*RV, *Sac*I, *Eco*RI e *Hind*III, os fragmentos gerados foram clonados no vetor pBluescript SK e sequenciados. Três das quatro amostras geraram um clone de DNA-A que compartilham identidade de 97% com *Sida micrantha* mosaic virus. As quatro amostras geraram cada uma entre dois e quatro clones de DNA-B que compartilham identidade de 90% a 95% também com *Sida micrantha* mosaic virus, confirmando, pela primeira vez, a existência desse vírus em plantas de *Oxalis* spp. É importante o monitoramento da espécie daninha investigada, pois, além de sua ampla distribuição no Brasil, pode servir como fonte inóculo viral, podendo gerar um fluxo infeccioso pela sua interação com a mesma população de insetos vetores que infectam culturas de importância econômica como a soja, feijoeiro e tomateiro que já foram relatados como hospedeiras desse vírus.

Apoio: Embrapa, CNPq e FAP-DF.

---

<sup>1</sup> Biologia Molecular, mestrado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista CNPq

<sup>2</sup> Biotecnologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## PROSPECÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus* spp. ATIVAS CONTRA O NEMATÓIDE *Caenorhabditis elegans*

Mendonça, J.S.<sup>1</sup>; Montalvão, S.C.L.<sup>2</sup>; Eckstein, B.<sup>3</sup>; Monnerat, R.G.<sup>4</sup>

Os nematóides parasitas de plantas causam sérios prejuízos em várias culturas agrícola, destacando-se nematóides do gênero *Meloidogyne* spp. O manejo integrado da praga é necessário para reduzir o seu dano nas culturas. Dentre as formas de controle está o biológico, incluindo o uso de bactérias antagonistas, como as do gênero *Bacillus*. O nematóide bacteriófago de vida livre *Caenorhabditis elegans* é facilmente cultivado em laboratório, possuindo um ciclo de vida rápido, diferentemente dos nematóides do gênero *Meloidogyne* spp. que precisam ser cultivados em plantas hospedeiras e apresentam ciclo longo. Dessa forma, considerando que o nematóide *C. elegans* possa ser um modelo, o objetivo desse trabalho foi prospectar estirpes de *Bacillus* presentes na Coleção de Bactérias de Invertebrados da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia contra o nematóide *C. elegans* e identificar estirpes tóxicas para serem posteriormente testadas contra *Meloidogyne* spp. Os testes foram realizados com 42 estirpes de bacilos, onde os nematóides, suspensos em solução salina (NaCl 0,85%) foram colocados em contato com cada estirpe da bactéria esporulada (crescida em meio líquido por 72h) na proporção de 3:1 em placas de Petri. Após dois dias foi avaliada a taxa de mortalidade dos nematóides. Três estirpes causaram mortalidade acima de 40%, as demais taxas de mortalidade ficaram entre 28,7% e 0%. Este estudo evidencia que há estirpes de *Bt* presentes no banco de bacilos com atividade nematicida. A toxicidade das 3 estirpes será avaliada contra nematóides da espécie *M. incógnita*. Ainda, outras estirpes serão testadas no nematóide modelo *C. elegans* visando encontrar estirpes de bacilos com maior toxicidade do que as encontradas até o momento.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Centro Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup> Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Fitopatologia, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **SELEÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* PARA CONTROLE DO BICUDO DO ALGODOEIRO - *Anthonomus grandis* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)**

Bernardes, F.G.<sup>1</sup>; Rodrigues, R.C.R.<sup>2</sup>; Holanda, R.A.<sup>3</sup>; Martins, E.S.<sup>4</sup>; Queiroz, P.R.<sup>5</sup>; Eckstein, B.<sup>6</sup>; Monnerat, R.G.<sup>7</sup>

O bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis*) (Coleoptera: Curculionidae) é a principal praga do algodão no Brasil, sendo responsável por grandes prejuízos a essa cultura. Alguns hábitos do inseto como a oviposição e desenvolvimento larvário dentro dos botões florais, o tornam uma praga de difícil controle, que é feito basicamente por inseticidas em grandes quantidades. Uma alternativa para o controle do bicudo é a transgenia utilizando toxinas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis*, conhecidas como  $\delta$ -endotoxinas ou proteínas Cry e Cyt que são produzidas durante a fase de esporulação. O objetivo do trabalho foi selecionar estirpes de *B. thuringiensis* tóxicas ao bicudo do algodoeiro, identificar a sua composição gênica e avaliar a expressão destes genes a fim de buscar novas toxinas para o controle da praga. Foram testadas cento e vinte estirpes de *B. thuringiensis* da Coleção de Bactérias de Invertebrados da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia por meio de bioensaio seletivo, dentre as quais duas estirpes apresentaram toxicidade acima de 80% para o bicudo. Ambas as estirpes já eram conhecidas por sua toxicidade contra espécies da ordem Lepidoptera e, assim, já tinham a sua caracterização molecular descrita. Devido à importância de tais estirpes para o controle de mais de uma ordem de insetos, o sequenciamento total do genoma de ambas está sendo realizado, visando identificar genes candidatos para uso futuro no controle do bicudo do algodoeiro.

Apoio: Embrapa, UnB e CNPq.

---

<sup>1</sup> Biologia Molecular, mestrando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>3</sup> Biologia, graduação, bolsista CNPq

<sup>4</sup> Biologia Molecular, D.Sc., Instituto Mato-Grossense do Algodão

<sup>5</sup> Biologia Animal, D.Sc., Instituto Mato-Grossense do Algodão

<sup>6</sup> Fitopatologia, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup> Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## SEQUENCIAMENTO DE ALTO DESEMPENHO PARA IDENTIFICAÇÃO DE VÍRUS EM AMOSTRAS DE FEIJOEIRO

Alves-Freitas, D.M.T.<sup>1</sup>; Melo, F.L.<sup>2</sup>; Faria, J.C.<sup>3</sup>; Ribeiro, S.G.<sup>4</sup>

Cultivado em todas as regiões do Brasil, o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é o alimento básico na dieta da população brasileira, sendo uma importante fonte de proteína, fibras e minerais. Patógenos virais exercem um papel significativo na redução da produtividade e qualidade do feijoeiro. Atualmente, sete gêneros virais têm o feijão como hospedeiro. Apesar do limitado conhecimento da diversidade viral presente atualmente no cenário mundial, tecnologia de sequenciamento em larga escala e plataformas de bioinformática avançadas têm permitido o avanço na descoberta de novas espécies virais. Visando a caracterização de vírus de genoma de RNA na cultura do feijoeiro, amostras de feijoeiro apresentando sintomas virais foram submetidos ao sequenciamento de alto desempenho “next-generation sequencing” (NGS). Quatro amostras de folhas foram coletadas no estado de Goiás, duas no campo e duas em casa de vegetação, incluindo o feijão transgênico Olathe 5.1. RNA de fita dupla (dsRNA) foi extraído das amostras utilizando o protocolo de STE-fenol e coluna de celulose, visando enriquecer as amostras para vírus de dsRNA e de RNA na sua forma replicativa. Um pool das amostras foi enviado para sequenciamento de alto desempenho IlluminaMiSeq®. As sequências foram processadas com o programa CLC Genomics 7.5, para o processamento e construção dos contigs, e o programa Geneious®, para a comparação dos contigs com sequências virais disponíveis no banco de dados públicos do NCBI e a notação dos genes. Um total de 27.897 contigs foram montados a partir de 13.780.310 de leituras (reads) obtidos no sequenciamento. Quatro gêneros virais foram identificados, Carlavirus (*Betaflexiviridae*), Comovirus (*Comoviridae*), Cytorhabdovirus (*Rhabdoviridae*) e duas espécies do gênero Endornavirus (*Endornaviridae*). O tamanho dos contigs virais variaram entre 14.8 a 3.7 kb. Esse é o primeiro relato do gênero *Cytorhabdovirus* infectando feijoeiros. A utilização do sequenciamento NGS proporcionou a descoberta de um novo gênero viral infectando feijão e a obtenção de informações a respeito da ocorrência de vírus de genoma de RNA na cultura de feijoeiro no estado do Goiás, sendo, portanto, uma ferramenta excelente para estudo da diversidade viral em plantas.

Apoio: Embrapa e CNPq.

---

<sup>1</sup> Virologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>2</sup> Virologia e Bioinformática, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Virologia, Ph.D., Embrapa Arroz e Feijão

<sup>4</sup> Virologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



**SUSCEPTIBILIDADE DE LAGARTAS DA ESPÉCIE *Helicoverpa armigera* (HÜBNER, 1808) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) A PROTEÍNAS Cry DE *Bacillus thuringiensis***

Cavallin, E.K.S.<sup>1</sup>; Tomazette, M.R.<sup>2</sup>; Goergen, L.M.<sup>3</sup>; Damaceno, N.B.<sup>4</sup>; Martins, E.S.<sup>5</sup>; Ferreira, B.C.<sup>6</sup>; Eckstein, B.<sup>7</sup>; Monnerat, R.G.<sup>8</sup>

Recentemente, a lagarta *Helicoverpa armigera*, detectada no País na safra de 2012/2013 foi confirmada como uma importante praga de culturas de grande valor econômico no Brasil, como soja, milho, tomate e algodão. Dentre as formas de controle de insetos-praga, destaca-se o controle biológico através da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* a qual expressa uma gama de proteínas, em forma de cristais (proteínas Cry), tóxicas a várias espécies de lepidópteros. Este trabalho foi realizado no intuito de verificar a susceptibilidade de uma população de *H. armigera* (oriunda da Embrapa Hortaliças e mantida em laboratório desde 2013) a várias proteínas Cry, descritas na literatura como ativas contra lepidópteros (Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1B, Cry1C, Cry1F, Cry1G e Cry2Ab2). As proteínas mais tóxicas foram Cry1Ab, Cry1Ac e Cry1F, apresentando CL<sub>50</sub> inferior a 50 ng/cm<sup>2</sup>. Cry1C e Cry1G apresentaram pouca toxicidade, com CL<sub>50</sub> superior a 720 ng/cm<sup>2</sup>. Cry1B e Cry2Ab2 foram praticamente atóxicas apresentando CL<sub>50</sub> acima de 2.000 ng/cm<sup>2</sup>. Os resultados observados na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia mostram que a população avaliada, que foi coletada logo após sua introdução no País é suscetível a várias toxinas Cry, incluindo as aquelas que são expressas em plantas transgênicas e utilizadas para controle de lepidópteros-praga no Brasil: Cry1Ab; Cry1Ac e Cry1F. Portanto, conclui-se que produtos à base da bactéria *B. thuringiensis* e seus genes, incorporados em plantas através de transgenia, podem e devem ser utilizados no manejo dessa praga. Ainda, estudos voltados para o acompanhamento da evolução da susceptibilidade dessa espécie à proteínas Cry estão em andamento no Laboratório de Bactérias Entomopatogênicas da Embrapa, visando dar suporte ao delineamento de estratégias para o controle da praga.

Apoio: Embrapa, CNPq e Capes.

<sup>1</sup> Botânica, mestrado, Universidade de Brasília-UnB, bolsista CNPq

<sup>2</sup> Biologia, graduação, bolsista CNPq

<sup>3</sup> Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Biomedicina, graduação, Faculdades Integradas Icesp/Promove

<sup>5</sup> Biologia Molecular, D.Sc., Instituto Mato-grossense do Algodão

<sup>6</sup> Biologia Molecular, D.Sc., bolsista CNPq

<sup>7</sup> Fitopatologia, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>8</sup> Agronomia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**SUSCEPTIBILIDADE DE POPULAÇÕES DE *Spodoptera frugiperda* J.E. SMITH (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) ORIUNDAS DE ALGODÃO TRANSGÊNICO (975WS) DO ESTADO DO MATO GROSSO ÀS TOXINAS Cry1Ac E Cry1F DE *Bacillus thuringiensis***

Goergen, L.M.<sup>1</sup>; Eckstein, B.<sup>2</sup>; Macedo, C.L.<sup>3</sup>; Martins, E.S.<sup>4</sup>; Soares, C.M.S.<sup>5</sup>; Vicentino, G.C.<sup>6</sup>; Almeida, Z.<sup>7</sup>; Damaceno, N.B.<sup>8</sup>; Monnerat, R.G.<sup>9</sup>

O Estado do Mato Grosso (MT) é o principal produtor de algodão do País, que está entre os cinco maiores produtores da cultura no mundo. A cultura é atacada por diversas pragas, sendo *Spodoptera frugiperda* uma das mais importantes. Dentre as formas de controle das lagartas está o uso de cultivares transgênicas que expressam proteínas (Cry), oriundas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt), com atividade inseticida. A cultivar de algodão WideStrike® 975 (975WS - Dow AgroSciences), que expressa Cry1Ac e Cry1F, é amplamente cultivada no País e tem sido recomendada para controlar lagartas, incluindo *S. frugiperda*. Na safra de 2013/2014 produtores Mato-grossenses constataram danos significativos provocados por este inseto em lavouras que empregavam essa cultivar. Diante dos relatos, o objetivo deste estudo foi avaliar o nível de susceptibilidade de insetos provindos de cultivos com 975WS no Estado do MT frente às toxinas Cry1Ac e Cry1F. Para tal, insetos de fazendas de três municípios (Lucas do Rio Verde, Campo Verde e Ipiranga do Norte), foram coletados em março de 2014 e três colônias de insetos foram estabelecidas (população Sf17 (Ipiranga do Norte), Sf12 (Campo Verde) Sf18 (Lucas do Rio Verde + Campo Verde). Insetos de 2º ínstar de cada população foram submetidos a bioensaios contendo separadamente as proteínas purificadas na concentração de 3.500 ng.cm<sup>2</sup>. Após 2 e 7 dias a taxa de mortalidade das lagartas foi avaliada. Observou-se elevados índices de sobrevivência das lagartas. Para a toxina Cry1Ac as taxas de mortalidade foram de 56,2% (Sf12), 16,6% (Sf17) e 20,8% (Sf18), para a toxina Cry1F, as taxas de mortalidade foram de 25% (Sf12), 29,2% (Sf17) e 54,2% (Sf18). A mortalidade dos insetos que não foram submetidos às toxinas (controle) variou entre 0 e 16%. Uma população de *S. frugiperda* suscetível (Sflab) (mantida em laboratório) é ao menos 10 vezes mais suscetível a estas proteínas. Os dados dos bioensaios demonstram que as populações de *S. frugiperda* apresentam baixa suscetibilidade às toxinas expressas pela cultivar 975WS. Este resultado é um alerta para a necessidade da adoção de estratégias que visem reduzir a pressão de seleção sobre insetos expostos à culturas Bt, a fim de se assegurar o uso dessa tecnologia de importância no manejo de pragas por períodos maiores.

<sup>1</sup> Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Fitopatologia, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Biologia Microbiana, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Biologia Molecular, D.Sc., Instituto Mato-Grossense do Algodão

<sup>5</sup> Entomologia, D.Sc., Instituto Mato-Grossense do Algodão

<sup>6</sup> Ecologia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>7</sup> Biomedicina, graduação, bolsista CNPq

<sup>8</sup> Biomedicina, graduação, Fundação Eliseu Alves

<sup>9</sup> Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## TRATAMENTO DE SEMENTES DE ALGODÃO COM *Bacillus thuringiensis* VISANDO O DESENVOLVIMENTO VEGETAL E O CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda*

Costa, F.S.S.<sup>1</sup>; Praça, L.B.<sup>2</sup>; Gomes, A.C.M.M.<sup>3</sup>; Soares, C.M.S.<sup>4</sup>; Monnerat, R.G.<sup>5</sup>

*Bacillus thuringiensis* (Bt) já é utilizado na cultura do algodoeiro, porém sua eficiência a partir da colonização de plantas via tratamento de sementes no controle de insetos-praga é pouco explorado. Este trabalho teve por objetivo avaliar a capacidade de Bt, inoculado na semente, na promoção de crescimento de plantas de algodão e no biocontrole sobre *Spodoptera frugiperda*. Os experimentos foram conduzidos utilizando uma estirpe e uma cultivar de algodão selecionadas a partir de estudos preliminares que avaliaram a interação Bt/planta quanto a capacidade de colonização endofítica e de crescimento vegetal. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação e avaliadas por um período de 30 dias após a emergência das plântulas (DAE). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 3 tratamentos (duas concentrações de Bt:  $10^6$  e  $10^8$  UFC/mg e a testemunha, sem bactéria). O índice de velocidade de emergência (IVE), estágio de desenvolvimento, altura de plantas e número de folhas, comprimento radicular e peso seco da parte aérea e da raiz foram avaliados. Três bioensaios foram realizados utilizando folhas coletadas de plantas com 18, 23 e 30 DAE ofertadas para larvas neonatas de *S. frugiperda* com objetivo de conhecer a capacidade inseticida das plantas. As larvas se alimentaram nestas folhas por 72 horas quando foram transferidas para dieta artificial até completarem 7 dias após o início do bioensaio. Amostras de raiz, caule e folhas de plantas com e sem inoculação foram preparadas para visualização da colonização por Bt por micrografia. Ao final do ensaio, os resultados mostraram que não houve diferença estatística do IVE, de massa seca da parte aérea e radicular e no comprimento de raiz. Foi observado, porém, que as concentrações de Bt induziram uma maior altura de plantas e foi positivo na produção de fitomassa a partir dos dados do estágio de desenvolvimento e número de folhas. Apesar de não ter sido observada mortalidade de *S. frugiperda*, larvas alimentadas com folhas tratadas com Bt apresentaram peso menores que os obtidos na testemunha (sem o Bt) aos 18 e 23 DAE. Apenas o ensaio realizado aos 30 DAE não reduziu o peso de lagartas. Características da estirpe de Bt utilizada como inóculo foram detectadas em plantas colonizadas via semente por micrografia. Os resultados mostram que sementes de algodão tratadas com Bt são hábeis em colonizar plantas e atuar simultaneamente na indução do crescimento e como potencial controle de larvas de *S. frugiperda*.

Apoio: Embrapa e Capes.

---

<sup>1</sup> Agronomia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Agronomia, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Biologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Entomologia, D.Sc., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

<sup>5</sup> Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## UTILIZAÇÃO DE *Caenorhabditis elegans* COMO MODELO PARA SELEÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus* spp. TÓXICAS A *Meloidogyne incognita* RAÇA 3

Montalvão, S.C.L.<sup>1</sup>; Castro, M.T.<sup>2</sup>; Soares, C.M.S.<sup>3</sup>; Carneiro, R.M.D.G.<sup>4</sup>; Blum, L.E.B.<sup>5</sup>; Monnerat, R.G.<sup>6</sup>

A cultura do algodão (*Gossypium hirsutum* L.) é acometida por várias doenças de grande importância econômica, dentre as quais a meloidoginose, causada pelo *Meloidogyne incognita* raças 3 e 4. Entre os métodos de controle utilizados no combate a esse fitopatógeno, destacam-se uso de variedades resistentes, aplicações de nematicidas químicos, principalmente via tratamento de sementes, solarização, aração profunda, rotação de culturas com incorporação de resíduos orgânicos e inorgânicos e uso de microrganismos antagonistas. Bactérias do gênero *Bacillus* são reconhecidamente bio reguladoras e antagonistas naturais de vários fitopatógenos, mas os testes para identificação de estirpes com potencial de biocontrole a estes fitonematóides são prejudicados pelas dificuldades de se obter grandes populações em curto período de tempo para montagem de ensaios de seleção. Aliando-se a isso, os testes *in vivo* são bastante trabalhosos e demorados, pois o ciclo do nematóide gira em torno de 28 dias e para se ter segurança nas avaliações, os experimentos estes devem ser conduzidos por aproximadamente 90 dias. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de *Caenorhabditis elegans* como organismo modelo para seleção de estirpes de *Bacillus* spp. com potencial de biocontrole contra *M. incognita*. Para tanto, foi realizado um ensaio *in vitro* com 11 estirpes de *B. thuringiensis*, obtidos de solos de diversos ecossistemas e que vem sendo mantidas na Coleção de Bactérias de Invertebrados da EMBRAPA-CENARGEN, para verificar a atividade tóxica ao nematóide *C. elegans*. Posteriormente, estas mesmas estirpes foram testadas contra J2 de *M. ingonita*. O ensaio para o *C. elegans* foi montado em ambiente estéril onde em placas de Petri de 90 mm de diâmetro e altura de 15 mm foram adicionados 7,5 mL da suspensão mãe (*C. elegans*) e 2,5 mL do tratamento. Montados os tratamentos, estes foram encaminhados para estufa incubadora na ausência de luz, por 72 horas e a temperatura de 21° C. Passado o período de incubação, foram feitas as leituras do experimento com auxílio de microscópio óptico. O experimento foi montado em DIC (delineamento inteiramente casualizado) com 15 tratamentos e três repetições por tratamento, onde uma unidade experimental era composta por placa de Petri contendo 10 mL de suspensão. Para os ensaios com *M. incognita*, estes foram multiplicados em tomateiros e extraídos. Foi realizada a limpeza e a sanitização dos ovos. A partir dos ovos, em condições assépticas, foi montado o funil de Baerman modificado para obtenção do J2 e montagem do ensaio *in vitro*, idêntico ao descrito anteriormente para o *C. elegans*. A maioria das estirpes tóxicas a *C. elegans in vitro*, também foram tóxicas a *M. incognita* nas mesmas condições, sendo que 3 delas reduziram significativamente as populações dos dois nematóides. Esses resultados sugerem a possibilidade do uso desse modelo como forma de facilitar ensaios de seleção de *Bacillus* para *M. incognita*.

Apoio: Embrapa, IMAmt, Capes e CNPq.

<sup>1</sup> Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Agronomia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Entomologia, D.Sc., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

<sup>4</sup> Nematologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Fitopatologia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>6</sup> Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **VARIABILIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Meloidogyne paranaensis* POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES**

Santos, M.F.A.<sup>1</sup>; Peixoto, J.R.<sup>2</sup>; Mattos, V.S.<sup>3</sup>; Almeida, M.R.A.<sup>4</sup>; Castagnone-Sereno, P.<sup>5</sup>; Carneiro, R.M.D.G.<sup>6</sup>

Dentre as espécies de *Meloidogyne* que afetam o cafeeiro, destaca-se *M. paranaensis* pela intensidade dos danos que causa e distribuição em áreas produtoras de café no Brasil. Dessa maneira, o objetivo do trabalho foi estudar a variabilidade intraespecífica de sete isolados de *M. paranaensis*, provenientes de diferentes regiões geográficas do mundo, com perfis de esterase típicos da espécie (P1, P2 e P2a), com dois marcadores moleculares, RAPD e AFLP. Todas as populações foram caracterizadas pelo marcador molecular específico do tipo SCAR e suas identidades confirmadas. O DNA genômico foi extraído para cada um dos isolados e utilizado nas análises moleculares. Quarenta e três primers foram avaliados e 635 fragmentos selecionados para a análise dos resultados. A análise filogenética dos dados mostrou uma alta variabilidade intraespecífica entre os isolados de *M. paranaensis*, que se agruparam de acordo com o perfil enzimático P1 e P2 em dois grupos com similaridade de 99% e 100% respectivamente, exceto o isolado de perfil enzimático P2a da Guatemala que se agrupou separadamente de todos os outros isolados de *M. paranaensis*. O conhecimento da diversidade genética de *M. paranaensis* será correlacionado com a agressividade dessas populações, em cafeeiros resistentes a essa espécie.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

---

<sup>1</sup> Agronomia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Agronomia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Química, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista

<sup>5</sup> Biologia Molecular, Ph.D., INRA Sophia Antipolis, França

<sup>6</sup> Nematologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## VEGETAIS

## **ANÁLISE DA SIMILARIDADE DE GENÓTIPOS CULTIVADOS DE *Capsicum chinense* UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES**

Leite, P.H.S.<sup>1</sup>; Canela, F.M.<sup>1</sup>; Carvalho, N.<sup>2</sup>; Reifschneider, F.B.<sup>3</sup>; Ferreira, M.A.<sup>4</sup>; Buso, G.S.C.<sup>5</sup>

Utilizada culturalmente em diversos países por sua característica de ardência derivada da capsaicina, a pimenta é amplamente cultivada em todas as regiões do Brasil. A crescente demanda de mercado, estimada em 80 milhões de reais ao ano impulsiona a agricultura familiar. Com o objetivo de esclarecer a origem de 14 materiais de *C. chinense* cultivados na Bahia, estes foram comparados com 13 genótipos do programa de melhoramento da Embrapa Hortaliças com características morfológicas bastante próximas. A esta análise foram adicionados acessos de *C. frutescens* e *C. annuum* como grupos externos. A análise foi realizada inicialmente com 70 marcadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) que não foram capazes de distinguir os genótipos, prosseguiu-se, portanto utilizando-se marcadores moleculares RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) por seu alto nível de polimorfismo. Utilizou-se 16 *primers* RAPD polimórficos na amplificação do DNA por meio de reações de PCR, e a separação dos fragmentos foi realizada por meio de eletroforese em gel de agarose, corado com brometo de etídio. A matriz obtida pela análise dos marcadores foi submetida a análises estatísticas, com uso do software NTSYS (versão 2.21m), utilizando o coeficiente de JACCARD para a similaridade entre os acessos, e para análise de agrupamento o método UPGMA. Foram obtidos 80 marcadores para os diferentes genótipos resultando em um dendrograma no qual se observou a formação de dois principais grupos, um compreendendo os acessos da espécie *C. chinense* e o outro com os acessos dos grupos externos. O primeiro grupo apresentou dois subgrupos, um com 12 acessos dos materiais do programa de melhoramento e o segundo com os 14 acessos cultivados na Bahia. A similaridade entre esses dois subgrupos foi de 0.73, o que sugere relativa divergência genética entre os acessos do programa de melhoramento e os cultivados na Bahia. O presente estudo constatou a utilidade dos marcadores RAPD na distinção de genótipos de *Capsicum* com alta similaridade morfológica.

---

<sup>1</sup> Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Agronomia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Melhoramento, Ph.D., Embrapa Hortaliças

<sup>4</sup> Química, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DO GÊNERO *Mentha* UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES ISSR

Canela, F.M.<sup>1</sup>; Leite, P.H.S.<sup>1</sup>; Ferreira, M.A.<sup>2</sup>; Carvalho, N.<sup>3</sup>; Silva, D.B.<sup>4</sup>; Vieira, R.F.<sup>5</sup>; Buso, G.S.C.<sup>6</sup>

Utilizada nas indústrias farmacêutica, alimentícia e de cosméticos, espécies do gênero *Mentha* são cultivadas em várias regiões do Brasil, apresentando ampla produção do seu óleo vegetal para o mercado interno e externo. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia mantém, por meio de cultivo in vivo e in vitro, um Banco Ativo de Germoplasma com 82 acessos representando diversas espécies de *Mentha*, porém o conhecimento e uso deste germoplasma é ainda incipiente e demanda esforço imediato para que possa ser explorado eficientemente, preservado e continuamente utilizado. Além disso, há um desafio quanto sua classificação, devido à alta incidência de hibridação interespecífica entre as espécies. Uma das alternativas para incrementar o conhecimento da variabilidade genética e melhor utilização da coleção de menta, é a análise dos acessos por meio de marcadores moleculares ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), que são dominantes, de alta reprodutibilidade e altos níveis de fragmentos polimórficos. O objetivo deste estudo foi avaliar a variabilidade genética dos acessos de menta utilizando marcadores moleculares ISSR. Utilizou-se 12 *primers* ISSR polimórficos na amplificação do DNA e a separação dos fragmentos foi realizada por meio de eletroforese em gel de agarose, corado com brometo de etídio. A matriz obtida pela análise dos marcadores foi submetida a análises estatísticas, com uso do software NTSYS (versão 2.21m), utilizando o coeficiente de JACCARD para a similaridade entre os acessos, e para análise de agrupamento o método UPGMA. Foram obtidos 116 marcadores para os diferentes genótipos, resultando em um dendrograma no qual se observa a formação de dois principais grupos, com similaridade de 0.31 entre eles. O primeiro grupo representa 75 acessos, que dividiu-se em dois subgrupos com similaridade de 0.35, o primeiro subgrupo foi representado principalmente pela *M. suaveolens* Ehrh. O segundo subgrupo representou uma maior similaridade entre as espécies *M. piperita* L., *M. spicata* L., híbridos e diferentes espécies nomeadas *Mentha* sp. O segundo principal grupo é representado por 7 acessos com similaridade de 0.4, onde dividiu-se em dois subgrupos, o primeiro é representado pelas espécies *M. canadensis* L., e o segundo pela *M. arvensis* L. Conclui-se que houve grande variabilidade entre as espécies, na qual o marcador ISSR apresentou ser útil para um conhecimento mais detalhado do germoplasma de *Mentha* conservado.

Apoio: Capes, Cenargen e UnB.

---

<sup>1</sup> Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Química, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Agronomia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Agronomia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Botânica, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



## **ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE LINHAGENS DE MELÃO UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES SSR**

Carvalho, N.<sup>1</sup>; Canela, F.M.<sup>2</sup>; Ferreira, M.A.<sup>3</sup>; Oliveira, V.R.<sup>4</sup>; Santos, M.F.<sup>4</sup>; Souza, N.O.S.<sup>5</sup>; Buso, G.S.C.<sup>6</sup>

Diante da produção nos últimos anos, o melão (*Cucumis melo* L.) é uma espécie que tem grande importância mundial no cenário da fruticultura, sobretudo no Brasil. O agronegócio nacional apresentou um crescimento de mais de 800% nas últimas décadas, e a produção concentra-se no Nordeste (95,8%), contribuindo para o desenvolvimento socioeconômico da região, que apresenta carência de recursos e oportunidades. Os melões mais cultivados no Brasil pertencem ao grupo *inodorus* tipo amarelo, apresentam frutos com casca de coloração amarela e longo período de conservação pós-colheita. Os estudos de variabilidade genética auxiliam programas de melhoramento possibilitando a obtenção de populações com efeitos heteróticos significativos e híbridos superiores. Marcadores moleculares SSR (Simple Sequence Repeats) tem sido utilizados como uma eficiente ferramenta para análises de variabilidade genética. O objetivo deste estudo foi analisar linhagens de melão do tipo amarelo desenvolvidas no programa de melhoramento genético de melão da Embrapa Hortaliças, utilizando marcadores SSR. Foram avaliadas 141 linhagens com 21 *primers* polimórficos em gel de poliacrilamida, corado com nitrato de prata. A análise genética destes marcadores foi realizada utilizando os softwares GDA (versão 1.0) e NTSYS (versão 2.21m). A similaridade entre os genótipos foi obtida utilizando o coeficiente BAND e o agrupamento por meio do método UPGMA. Os 21 *loci* analisados apresentaram um total de 45 alelos o número de alelos por loco variou de 2 a 3, com média de 2.14. A heterozigosidade observada variou de 0 a 0.035, com média de 0.011, apresentando a maioria dos *loci* em homozigose. O PIC (Polymorphism Information Content) variou de 0.014 a 0.662, com média de 0.356, indicando que o marcador utilizado para esse estudo se mostrou informativo. A similaridade genética representada no dendrograma variou de 0.60 a 1. Os 141 genótipos foram alocados em dois principais grupos com 60% de similaridade entre eles. O primeiro grupo foi subdividido em 2 subgrupos com 65% de similaridade. O segundo grupo apresentou a linhagem 44 individualizada em um subgrupo, com 54% de similaridade com os genótipos restantes dentro desse grupo. Portanto, prevê-se um maior ganho genético pelo cruzamento entre linhagens dos dois principais grupos divergentes, e a utilização da linhagem 44, provavelmente aumentará a variabilidade alélica no programa de melhoramento.

Apoio: Capes, Cenargen e UnB.

---

<sup>1</sup> Agronomia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Química, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Genética e Melhoramento, Ph.D., Embrapa Hortaliças

<sup>5</sup> Genética e Melhoramento de Plantas, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>6</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **ANÁLISE DE PERFIS PROTÉICOS DA INTERAÇÃO PLANTA-*Xanthomonas campestris* UTILIZANDO ESPECTROMETRIA DE MASSA MALDI-TOF**

Santos, I.R.<sup>1</sup>; Ribeiro, D.G.<sup>2</sup>; Carmo, L.S.T.<sup>3</sup>; Oliveira Neto, O.B.<sup>4</sup>; Silva, L.P.<sup>5</sup>; Mehta, A.<sup>6</sup>

*Brassica oleracea* e *Gossypium hirsutum* são duas espécies que têm grande valor econômico e são bastante afetadas pela bactéria *Xanthomonas campestris*. Essa bactéria invade o xilema e coloniza o mesófilo, causando doenças importantes em brassica e algodão. Este estudo teve como objetivo a análise de perfis protéicos específicos, expressos em plantas infectadas com *X. campestris* por meio de espectrometria de massa associada ao software Biotyper (Bruker Daltonics). Plantas dos genótipos resistentes e suscetíveis de brassica e algodão inoculadas com *X. campestris* e na condição controle foram coletadas 24 horas e 120 dias após a inoculação. Proteínas totais foram extraídas com fenol, precipitadas com acetato de amônio em metanol e solubilizadas com ácido fórmico 70% e acetonitrila (1:1 v/v). Foi aplicado na placa 1 µL de amostra com 1 µL de matriz (ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico) e as proteínas foram analisadas utilizando o espectrômetro de massa Microflex (Bruker Daltonics) de acordo com as instruções do fabricante. Os espectros foram analisados utilizando os softwares FlexControl (versão 3.0) e Biotyper (Bruker Daltonics). Os agrupamentos obtidos não demonstraram uma clara discriminação entre plantas inoculadas e não inoculadas com a bactéria. Entretanto, foi possível observar um agrupamento de acordo com a réplica biológica. Esses resultados sugerem que esta abordagem poderia ser utilizada para inferir a variabilidade existente entre réplicas biológicas. A detecção desta variabilidade de maneira rápida e simples antes de análises mais complexas como de transcriptômica e proteômica possibilitaria uma compreensão adequada da variabilidade das amostras sendo analisadas e facilitaria a interpretação biológica dos resultados.

Apoio: Cenargen, CNPq e UNIP.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

<sup>2</sup> Botânica, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Biologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biologia Molecular, Ph.D., pesq. associado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Biologia Animal, Embrapa-Cenargen, Brasília-DF

<sup>6</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## ANATOMIA FOLIAR NO AUXÍLIO À TAXONOMIA DO COMPLEXO BABAÇU

Mata, L.R.<sup>1</sup>; Moretzsohn, M.C.<sup>2</sup>; Gomes, S.M.<sup>3</sup>; Cavallari, M.M.<sup>4</sup>; Azevedo, V.C.R.<sup>2</sup>

O estudo anatômico das espécies de *Attalea* propostas neste trabalho visa obter informações que ajudem na classificação taxonômica das espécies, o que contribui diretamente para os programas de conservação e programas de melhoramento. Folhas de sete espécies de babaçu foram analisadas: *A. speciosa*, *A. barreirensis*, *A. eichleri*, *A. funifera*, *A. maripa*, *A. phalerata* e *A. vitrivar*. As espécies observadas apresentaram epiderme unisseriada e em ambas as faces, com forma retangular e trapezóide. *A. speciosa* apresentou ondulações nas paredes das células epidérmicas. Ambas as faces de todas as espécies são revestidas por uma cutícula, e apresentaram tricomas tectores glandulares, pluricelulares, fundidos e fortemente lignificados. Foi observado um complexo estomático tetracítico em todas as espécies de *Attalea* estudadas, sendo classificadas como folhas hipoestomáticas com exceção de *A. barreirensis*, que é anfiestomática. Os estômatos são organizados em fileiras longitudinais paralelas ou perpendiculares às nervuras. As células subsidiárias polares das espécies *A. speciosa*, *A. barreirensis*, *A. eichleri*, *A. phalerata* e *A. vitrivar* apresentaram formato reniforme. As das espécies *A. funifera* e *A. maripa* apresentaram formato trapezóide. Todas apresentaram mesófilos dorsiventrais. Foram observados corpos silicosos no mesófilo de *A. maripa*. A nervura central possui um tecido de expansão, multiestratificado, com três a quatro camadas denominados células buliformes. Os feixes colaterais primários encontravam-se travados em pelo menos uma das faces, constatação observada em todas as espécies deste estudo. O número de feixes colaterais entre os feixes primários variou inclusive dentro de uma mesma espécie. Em todas as sete espécies as fibras estavam situadas internamente à hipoderme. A anatomia foliar das sete espécies estudadas do gênero *Attalea* foi altamente informativa. Os dados gerados podem auxiliar grandemente na identificação das espécies, assim como na classificação taxonômica das mesmas. No entanto são necessários mais estudos anatômicos foliares associados a estudos genéticos e morfológicos para se estimar com maior confiabilidade a relação entre as espécies deste gênero.

Apoio: Embrapa e UnB.

---

<sup>1</sup> Botânica, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Biologia Vegetal, Ph.D. Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Genética, Ph.D., Embrapa Cocais

## BIOCHAR DE LODO DE ESGOTO: EFEITOS NO DESENVOLVIMENTO AGRONÔMICO DO RABANETE

Sousa, A.A.T.C.<sup>1</sup>; Figueiredo, C.C.<sup>2</sup>; Sujii, E.R.<sup>3</sup>; Pires, C.S.S.<sup>3</sup>; Souza, L.M.<sup>4</sup>

O biochar é um material sólido obtido através da conversão termoquímica de diversas biomassas (matérias-primas) em um ambiente sem oxigênio ou com pouco oxigênio e que pode ser utilizado como condicionador do solo e fonte de nutrientes para plantas. O biochar de lodo de esgoto além de ser rico em matéria orgânica e nutrientes, como nitrogênio e fósforo, aumenta a eficiência dos fertilizantes para as culturas através das melhorias das propriedades químicas do solo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes doses de biochar de lodo de esgoto no desenvolvimento agrônomo do rabanete. O biochar de lodo de esgoto foi produzido através de pirólise a 300 °C. Os parâmetros avaliados no desenvolvimento agrônomo da cultura foram: altura de planta, comprimento foliar, massa seca da parte aérea, número de folhas e produtividade. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram em função da dose de biochar, sendo 0 Mg ha<sup>-1</sup>, 20 Mg ha<sup>-1</sup>, 40 Mg ha<sup>-1</sup>, 60 Mg ha<sup>-1</sup>, 80 Mg ha<sup>-1</sup> e 100 Mg ha<sup>-1</sup>. Para todos os parâmetros avaliados houve um aumento em função do aumento da dose, chegando a estabilizar entre as doses 20 e 60 Mg ha<sup>-1</sup> e uma leve queda a partir da dose 60 Mg ha<sup>-1</sup>. O biochar de lodo de esgoto torna-se uma alternativa de reaproveitamento desse resíduo por ser uma fonte nutricional viável para utilização na agricultura tanto nos aspectos de nutrição de plantas quanto para os aspectos do condicionamento do solo.

Apoio: Cenargen e CNPq/UnB.

---

<sup>1</sup> Agronomia, mestrado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>2</sup> Agronomia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Entomologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## DIGITALIZAÇÃO E GESTÃO DE DOCUMENTOS DO SETOR DE INTERCÂMBIO E QUARENTENA DE GERMOPLASMA VEGETAL

Barros, L.C.<sup>1</sup>; Dorés, E.R.<sup>2</sup>; Benito, N.P.<sup>3</sup>; Ferreira, F.R.<sup>3</sup>

A digitalização de documentos é um processo que permite proteger informações que podem ser perdidas ao longo do tempo pela dificuldade de conservar grandes volumes de papel. Além disso, facilita o acesso às informações contidas nos documentos por meio da disponibilização dos arquivos eletrônicos agilizando processos de buscas de documentos e possibilitando análises históricas e estatísticas relacionadas às informações. Diversas instituições públicas estão digitalizando documentos acumulados durante anos de atividades, como exemplo, o Museu Botânico de Curitiba, a Delegacia Regional do Trabalho do Rio Grande do Sul, a Biblioteca Nacional do Rio de Janeiro, entre outras. Este trabalho tem como objetivo digitalizar os documentos antigos dos Núcleos de Intercâmbio e da Estação de Quarentena de Germoplasma Vegetal (NIG/NEQGV) da Embrapa e levantar as informações sobre o material vegetal intercambiado e introduzido no Brasil para pesquisa. Foi selecionado inicialmente o ano de 1996, ao todo nesse ano foram executados 490 processos. Foi utilizado um software de gerenciamento de arquivos (Dokmee, versão 4.7.2, Office Gemini) que permite armazenar e organizar os documentos digitalizados e criar uma base de dados relacionada a estes documentos com índices para realização de pesquisas. Cada processo digitalizado recebeu cinco índices, número do processo, a situação do processo, o tipo de trânsito, a forma de propagação e o gênero do material vegetal, visando facilitar a busca do documento dentro da base de dados. O tempo de digitalização das páginas dos processos variou de acordo com os ajustes necessários na edição como escurecimento de caracteres e divisão de páginas fora do padrão A4. No ano de 1996, passaram pelo NIG/NEQGV 97 processos de trânsito interno, 151 processos de Exportação e 210 processos de importação. Dos processos de importação 133 foram finalizados, os demais foram cancelados ou não atendidos pelo doador do material. Vinte e oito países de cinco continentes enviaram materiais para o Brasil, a maior contribuição foi dos Estados Unidos com 30 processos de 12 diferentes gêneros. Entre os diversos gêneros de material vegetal intercambiado, o *Triticum* (trigo) foi o mais importado, com 34 processos num total de 7.935 acessos procedentes de seis países.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

<sup>2</sup> Ciências Agrárias, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Agronomia, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **DINÂMICA NATURAL DO COMPONENTE ARBÓREO EM UM TRECHO DE MATA DE GALERIA INUNDÁVEL NA FAZENDA SUCUPIRA, BRASÍLIA, DF**

Martins, M.S.<sup>1</sup>; Walter, B.M.T.<sup>2</sup>

Mata de Galeria é uma das formações florestais do bioma Cerrado, exercendo importante função na manutenção e proteção de solos e recursos hídricos. Essas Matas compreendem habitats de alta complexidade, ocorrendo sobre solos mal ou bem drenados, e abrigam elevada riqueza em espécies vegetais. Sobre solos mal drenados esta fitofisionomia foi menos estudada, havendo, portanto, menos dados e conhecimentos para auxiliar nas práticas de conservação. Monitoramentos de dinâmica, em estudos de longo prazo, expressam variações florísticas e estruturais que ocorrem nas comunidades, permitindo um melhor entendimento dos mecanismos que mantêm sua riqueza e eventuais mudanças decorrentes de processos de reorganização frente às modificações no tempo. Entender melhor o funcionamento desse tipo de ambiente peculiar possibilita práticas adequadas de manejo, preservação e recuperação dessas florestas e diagnósticos mais precisos para indicar áreas prioritárias para conservação. Este trabalho objetivou avaliar a dinâmica florística e estrutural de um trecho inundável na Mata de Galeria do alto córrego Riacho Fundo, localizado na Fazenda Sucupira, Distrito Federal. O levantamento consistiu da remediação de um bloco 40 parcelas de 20x10m (200m<sup>2</sup>), totalizando 0,8 ha de amostragem, já amostrado anteriormente por duas vezes; em 2000 e 2008. O primeiro acompanhamento, de 2008, teve os dados publicados em 2011. Neste segundo acompanhamento (terceira medição), uma vez mais estão sendo mensurados o diâmetro à altura do peito (DAP), a altura total e identificados botanicamente todos os indivíduos arbóreos presentes nas parcelas com DAP  $\geq$  3cm. De posse desses dados, serão calculados os parâmetros fitossociológicos absolutos e relativos, tais como densidade, dominância e frequência. Para as análises de dinâmica serão consideradas as variáveis mortalidade, recrutamento e incremento diamétrico das três medições. Os trabalhos de campo se encontram em fase final nesta terceira medição, mas já é possível inferir que a floresta continua a se mostrar sob um processo de dinâmica acelerado. Por volta de 2.850 indivíduos deverão ser amostrados em 2015, o que representa recrutamento de cerca de 120 árvores em relação à 2008. Isto sugere recuperação na densidade, mas, em 2015, ainda há cerca de 200 plantas a menos que a medição inicial feita em 2000.

Apoio: Embrapa e CNPq (PIBIC).

---

<sup>1</sup> Engenharia Florestal, graduação, Universidade de Brasília-UnB, Bolsista PIBIC

<sup>1</sup> Botânica e Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## DISTRIBUIÇÃO DE RETROTRANSPOSONS DO TIPO LTR E SEQUÊNCIAS DE DNA RIBOSSÔMICAS EM CROMOSSOMOS DE *Arachis* spp. POR HIBRIDIZAÇÃO IN SITU FLUORESCENTE - FISH

Nascimento, E.F.M.B.<sup>1</sup>; Vidigal, B.S.<sup>2</sup>; Bertoli, D.J.<sup>3</sup>; Leal-Bertoli, S.<sup>3</sup>; Fonseca, A.<sup>4</sup>; Brasileiro, A.C.M.<sup>5</sup>; Guimarães, P.M.<sup>3</sup>; Araujo, A.C.G.<sup>5</sup>

O genoma do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) tem cerca de 2.8 Gb de tamanho e numerosos elementos genéticos transponíveis (TEs). Entre eles, os retrotransposons (RTs) flanqueados por *long terminal repeats* (LTR) são os RTs mais abundantes e ativos que podem interferir no metabolismo, desenvolvimento, reprodução e morfogênese da planta, devido a sua duplicação, transcrição e processos excisão / integração. Análises prévias indicam que o comportamento meiótico dos cromossomos do amendoim sugere uma divergência entre os dois subgenomas que o compõe, originários de seus genitores silvestres *A. duranensis* (genoma A) e *A. ipaënsis* (genoma B). Esta divergência se deve principalmente pela alta frequência e tipo de TEs presentes em cada genoma, principalmente os RT-LTR. Após a identificação dos RT-LTRs em *A. duranensis* e *A. ipaënsis*, foram apresentados o padrão de distribuição dos RT-LTRs RE128 e Pipoka, bem como de sequências de DNA ribossômico (DNAr) em cromossomos do amendoim, seus genitores e do tetraplóide sintético (*A. ipaënsis* KG30076 x *A. duranensis* V14167). O número de sítios de DNAr 5S e 18S-5.8S-25S foram confirmados para os genomas do amendoim e seus genitores, e determinado para o anfidiplóide, que diferentemente do tetraplóide natural, mostrou diferenças na quantidade de sítios de hibridização com sonda de DNAr 18S-5.8S-25S. Isso se deve possivelmente ao desbalanço entre o número de cromossomos dos genomas A e B no tetraplóide sintético. Padrões de distribuição de sinais após hibridização com as sondas RT-LTRs confirmam que estes elementos são compartilhados e ocorrem em uma frequência similar nos genomas A e B. Estes estudos permitem comparar a estrutura e função dos RT-LTRs, elementos repetitivos ainda pouco explorados no grande e complexo genoma de *Arachis*, incluindo uma visão em termos evolutivos e de domesticação nos tetraplóides.

Apoio: Embrapa e CNPq.

<sup>1</sup> Botânica, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Molecular, Ph.D, bolsista CNPq

<sup>3</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biologia Vegetal, Ph.D, bolsista CNPq

<sup>5</sup> Biologia Molecular e Celular Vegetal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## GENÔMICA COMPARATIVA DE RECEPTORES PUTATIVOS ACOPLADOS À PROTEÍNA G EM PLANTAS

Bresso, E.<sup>1</sup>; Grynberg, P.; Togawa R.C.; Martins, N.F.; Maigret, B.

Receptores acoplados à proteína G (GPCRs) constituem uma classe de proteínas (7TM) com sete segmentos transmembranares envolvidos na transdução de sinal em resposta a vários estímulos. Os GPCRs foram identificados a partir da análise do genoma, primeiro em humanos seguido de outras espécies e são conhecidos como receptores extremamente versáteis para ligantes extracelulares. Os GPCRs são classificados de acordo com a resposta a estímulos e suas relações evolutivas uma vez que a similaridade de sequência é baixa. Uma questão biológica importante ainda permanece sem resposta: haveria GPCRs em plantas? Estarão envolvidos em resistência ao estresse à seca? Estudos em genômica prevêm cerca de 50 GPCRs das classes A, B, C e D em *Arabidopsis*. O presente estudo descreve a análise genômica comparativa de 9 espécies de plantas (batata, tomate, pimenta, arroz, milho, trigo, feijão, soja e mandioca), em busca de GPCRs. Para isso, todas as proteínas do genoma foram submetidas a filtros sucessivos. Em primeiro lugar, foram filtrados os termos "desconhecido", "putativo", "GPCR", "receptor de proteína G acoplado" no conjunto anotado de proteínas. Em seguida, os grupos selecionados resultantes foram selecionados quanto ao tamanho da proteína (a partir de 250 a 1000 AA). Do genoma de tomate, a partir de 34,725 sequências, o primeiro filtro de seleção resultou no conjunto de 2,166 sequências. As sequências candidatas foram submetidas à predição de hélices transmembranares TMHMM. As proteínas previstas foram finalmente submetidos a um banco de dados dedicado a GPCR (GPCRPipe). De acordo com as previsões GPCRpipe, 4 candidatos a GPCRs foram encontrados no genoma da batata, 1 em tomate, pimenta em 0, 1 em arroz, 3 em milho, no trigo 8, 3 em feijão, 5 em soja e 2 em mandioca. Para propor uma possível classificação das sequências, foram modeladas as proteínas para as quais a estrutura 3D foi resolvida e armazenadas na base de dados PDB. A análise das sequências revelou que as plantas testados apresentam receptores GPCRs em comum, que podem estar relacionados a processos biológicos importantes. Além disso, o GPCR bem caracterizados GCR1 de *Arabidopsis thaliana* foi encontrado em tomate, batata, mandioca, soja e feijão. Portanto, o conhecimento em análise de genoma de plantas direcionado para GPCRs pode contribuir para o conhecimento sobre os processos biológicos e relaciona-los à evolução e a resposta a estresse.

Apoio: Embrapa e Capes.

---

<sup>1</sup> Bioinformática, pós- graduação, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>2</sup> Bioinformática, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Bioinformática, Ph.D., LORIA-CNRS



## IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS ASSOCIADAS AO DÉFICIT HÍDRICO EM ESPÉCIE SILVESTRE DE *Arachis*

Martins, A.C.Q.<sup>1</sup>; Martins, C.C.C.<sup>2</sup>; Carmo, L.S.T.<sup>3</sup>; Silva, L.P.<sup>4</sup>; Araújo, A.C.G.<sup>5</sup>; Guimarães, P.M.<sup>6</sup>; Brasileiro, A.C.M.<sup>6</sup>; Mehta, A.<sup>6</sup>

Os grãos de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) têm alta qualidade de óleo comestível e proteína, e podem ser consumidos *in natura*. O amendoim é a quarta oleaginosa mais produzida no mundo, especialmente nas regiões áridas e semi-áridas, áreas propensas à seca e que podem limitar a sua produtividade pela escassez de água. Os parentes silvestres do amendoim adquiriram ao longo de sua evolução tolerância/resistência a diversos estresses abióticos e bióticos e são fontes de alelos para programas de melhoramento. *Arachis duranensis*, por exemplo, é um dos progenitores do amendoim e possui uma alta capacidade de adaptação a condições de seca. Este estudo teve como objetivo analisar a expressão diferencial de proteínas em raízes de plantas de *A. duranensis* submetidas a um déficit hídrico gradual no solo. Um total de 59 proteínas diferenciais foi observado, incluindo 19 diminuídas, 15 aumentadas e três exclusivas em plantas sob condições de déficit hídrico. No grupo controle, foram observadas 22 proteínas exclusivas. A maioria das proteínas identificadas neste estudo está associada com o metabolismo de carboidratos ou de energia, bem como a estresses e defesa. Algumas dessas proteínas serão selecionadas para análise de expressão dos genes correspondentes por RT-qPCR. Este é o primeiro estudo que mostra a expressão diferencial de proteínas associadas com déficit hídrico em uma espécie silvestre de *Arachis*. Os dados aqui obtidos contribuirão para um melhor entendimento da resposta das plantas à seca, destacando genes candidatos que possam estar envolvidos no aumento da tolerância à seca.

Apoio: Capes/UnB, Embrapa e CNPq.

---

<sup>1</sup> Biologia Molecular' doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Genética e Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Biologia Molecular, pós doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biologia Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Biologia Molecular e Celular Vegetal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE ESPÉCIES DO COMPLEXO BABAÇU (*Attalea* spp.)

Mata, L.R.<sup>1</sup>; Inglis, P.W.<sup>2</sup>; Cavallari, M.M.<sup>3</sup>; Moretzsohn, M.C.<sup>4</sup>; Azevedo, V.C.R.<sup>4</sup>

O babaçu (*Attalea* spp.) é uma palmeira nativa com ampla distribuição no Nordeste do Brasil e constitui um recurso natural importante na região. É um dos principais produtos extrativistas do país, contribuindo de maneira significativa para a economia de alguns estados da Federação. A conservação e o uso sustentável dos babaçuais são, portanto, fundamentais. A identificação taxonômica do conjunto de espécies de babaçu é complexa, e não há consenso entre os diversos autores, por isso, esse conjunto de espécies é denominado “complexo babaçu”. O desenvolvimento de híbridos naturais entre as espécies, o baixo número de coletas e a pequena quantidade de estudos do gênero dificultam a correta identificação taxonômica dessas espécies. O sistema de identificação molecular por DNA *barcode* auxilia na identificação rápida e eficiente das espécies. Foram realizados estudos com DNA *barcode* em sete espécies de babaçu: *A. speciosa*, *A. barreirensis*, *A. eichleri*, *A. funifera*, *A. maripa*, *A. phalerata* e *A. vitrivir*. As regiões do DNA analisadas foram: *matK*, *rbcL*, ITS, *psbA-trnH*, *trnL-trnL* e PRK. As árvores filogenéticas foram construídas utilizando-se os métodos de Inferência Bayesiana, Máxima Parcimônia e Máxima Verossimilhança. Os marcadores *matK* e *rbcL* foram ineficientes na diferenciação genética das espécies analisadas. Os marcadores *psbA-trnH*, *trnL-trnL*, ITS e PRK demonstraram ser eficazes na diferenciação de algumas espécies, gerando clados espécie-específicos. As espécies *A. phalerata* e *A. funifera* separaram-se das outras espécies tanto com o marcador *psbA-trnH*, como com o marcador ITS. Com o marcador PRK, a espécie *A. funifera* separou-se das demais. As espécies *A. barreirenses*, *A. eichleri*, *A. maripa*, *A. speciosa* e *A. vitrivir* tenderam a agrupar-se em todos os marcadores analisados. O uso de marcadores *barcode* em espécies do gênero *Attalea* necessita ser aprimorado. É necessária a busca de marcadores em outras regiões do DNA, os quais juntamente com os já elucidados possam ser suficientes para distinguir todas as espécies dentro do gênero e auxiliar na identificação e classificação taxonômica destas espécies.

Apoio: Embrapa e UnB.

<sup>1</sup> Botânica, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Microbiologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Genética, Ph.D., Embrapa Cocais

<sup>4</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## MANEJO AGROECOLÓGICO DE PLANTAS DE MARGARIDÃO (*Tithonia diversifolia*) E A ABUNDÂNCIA TEMPORAL DE INSETOS ASSOCIADOS

Harterreiten-Souza, E.S.<sup>1</sup>; Souza, L.M.<sup>2</sup>; Pires, C.S.S.<sup>3</sup>; Pujol-Luz, J.R.<sup>4</sup>; Sujii, E.R.<sup>3</sup>

O margaridão, *Tithonia diversifolia*, é bastante utilizado em sistemas agrícolas de base ecológica com funções de barreiras vegetacional e produção de massa verde. Além disso, pode ser atrativo para polinizadores e inimigos naturais devido à presença de recurso floral e nectários extraflorais. No entanto, seu papel funcional em comunidades de insetos é escasso e esse conhecimento pode ser útil em estratégias de manejo. O objetivo deste trabalho foi avaliar aspectos fenológicos do margaridão e à distribuição temporal de insetos associados, por grupos funcionais, para subsidiar estratégias de manejo. Características fenológicas foram observadas em plantas cultivadas em propriedades do DF, durante o período de 2010 a 2015. Já os insetos foram coletados diretamente nas plantas, com auxílio de potes de plástico, mensalmente, durante os meses de 11/2010 a 09/2011, em uma propriedade de produção orgânica localizada em Taguatinga, DF. Foram observados três períodos fenológicos distintos no margaridão: (i) produção de novas folhas (outubro-janeiro), (ii) período de floração (fevereiro-maio), (iii) senescência de folhas e flores (junho-setembro). Foram coletados 922 insetos pertencentes a 6 ordens e a 37 famílias. As espécies mais abundantes foram o besouro herbívoro *Astylus variegatus* (405 indivíduos), as moscas predadoras *Condylostylus* spp. (138 indivíduos) e as abelhas polinizadoras *Apis* spp. (120 indivíduos). Durante o período vegetativo, as moscas *Condylostylus* spp. foram mais abundantes. Já o besouro *A. variegatus* e a abelha *A. melifera* estavam associados diretamente às flores, com maior abundância ocorrendo nos meses de março e abril, coincidindo com o pico de floração. Durante a seca, há uma queda brusca da abundância dos insetos em função da baixa disponibilidade do recurso alimentar. Assim, observa-se que o margaridão pode ser um componente importante em agroecossistemas por atrair e conservar uma entomofauna diversa e benéfica, principalmente, no período de chuva e início da seca. Práticas agronômicas como o consórcio dessa planta com outras espécies e uso de irrigação são importantes para manter a disponibilidade de recursos no período de seca e conservação da entomofauna.

Apoio: Embrapa e CNPq.

---

<sup>1</sup> Ecologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Entomologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Zoologia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

## **MECANISMOS DE AÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA SINTETIZADAS VIA SÍNTESE VERDE UTILIZANDO-SE EXTRATO AQUOSO VEGETAL EM LINHAGEM DE CÉLULAS DE CÂNCER DE PELE NÃO-MELANOMA A431**

Ombredane, A.S.<sup>1</sup>; Silva, L.P.<sup>2</sup>; Polez, V.L.P.<sup>3</sup>; Joanitti, G.A.<sup>4</sup>

O câncer de pele não melanoma (CPNM) é o tipo de tumor de maior incidência no Brasil, sendo que o subtipo maligno denominado de carcinoma epidermóide representa 70% das mortes por CPNM. Portanto, o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para tal patologia é de grande interesse. O uso de compostos naturais e de nanopartículas de prata (AgNPs) demonstram uma grande relevância para o tratamento de vários tipos de câncer. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é sintetizar AgNPs utilizando extrato aquoso (EA) vegetal de uma espécie da família de Zingiberaceae, recobri-las com quitosana, caracterizá-las e investigar seus possíveis mecanismos de ação em linhagem de CPNM (A431), *in vitro*. A síntese verde das AgNPs foi realizada misturando o EA vegetal a uma solução de nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>). Após a síntese, as AgNPs foram adicionadas a uma solução de quitosana (CH-AgNPs) e deixadas sob agitação. O diâmetro hidrodinâmico, a carga de superfície e o índice de polidispersividade (Pdl) das estruturas foram analisadas por ZetaSizer<sup>®</sup>. A avaliação da citotoxicidade *in vitro* das amostras foi realizada por ensaio de MTT após 24 horas de exposição. Os mecanismos de ação das AgNPs e CH-AgNPs foram estudados por ensaios de citometria de fluxo (FACS) e azul de tripan (AT). As AgNPs obtidas apresentaram um diâmetro hidrodinâmico na escala nanométrica, Pdl < 0,5 e potencial Zeta negativo. As CH-AgNPs apresentaram um diâmetro hidrodinâmico na escala nanométrica, Pdl < 0,5 e potencial Zeta positivo. Ambas formulações mostraram uma atividade citotóxica dose-dependente após 24 horas de exposição em células A431. Além disso, a possibilidade de diversos mecanismos de ação ocorrendo simultaneamente foi investigada. O teste de AT demonstrou que as AgNPs e CH-AgNPs lesionaram a membrana plasmática das células e induziram aumento na fragmentação de DNA. Adicionalmente, foram observados efeitos na proliferação celular confirmados pela redução de 46,0% ± 2,9% no número total de células. A exposição de fosfatidilserina (indicador de apoptose) foi mais expressiva em células tratadas com CH-AgNPs quando comparada com AgNPs. Em suma, pode-se concluir que as AgNPs e CH-AgNPs bloqueiam a proliferação e induzem morte celular em A431 *in vitro* apresentando, portanto, potencial promissor para o tratamento de CPMN.

Apoio: Capes, CNPq e Embrapa.

---

<sup>1</sup> Biologia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Biologia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

## NOVOS MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA ESTUDO DA VARIABILIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE CAGAITA

Francisconi, A.F.<sup>1</sup>; Vasconcelos, P.B.<sup>2</sup>; Scariot, A.O.<sup>3</sup>; Azevedo, V.C.R.<sup>4</sup>

Para o estudo da espécie *Eugenia dysenterica* (DC.), popularmente conhecida como Cagaita, uma planta endêmica do bioma cerrado, foram desenhados 95 pares de *primers* de marcadores moleculares microssatélites para serem utilizados na genética de população e diversidade genética da espécie. A fim de se testar a viabilidade e polimorfismo desses marcadores foram feitas PCRs com testes de gradiente para determinar a temperatura ideal de anelamento. Esses testes foram feitos no termociclador, com temperaturas que variaram de 50°C até 60°C, com intervalos de 2°C. Foi realizada a verificação da temperatura ideal em eletroforese em gel de agarose corado com brometo de etídio. Após a definição da temperatura ideal de anelamento, os marcadores foram testados em 24 indivíduos da espécie. A análise da genotipagem destes locos foi realizada no sequenciador automático ABI 3730 (Life Technologies). A qualidade da genotipagem e o grau de polimorfismo foi avaliado no programa GeneMapper. Como resultado foram encontrados entre os 95 locos desenvolvidos, 52 que apresentaram anelamento na temperatura de 60°C, seis que apresentaram anelamento a 58°C, um anelamento a 54°C e um também a 52°C, sendo que o restante dos pares de *primers* não permitiram a amplificação de fragmentos nítidos nas temperaturas utilizadas neste estudo. Até o momento, foram genotipados 24 indivíduos com os 52 locos otimizados à 60°C, os quais passaram pela análise dos picos e foram aceitos aqueles que tiveram menos de 20% de erro na amostragem total. Posteriormente serão estimados os seguintes parâmetros: número médio de alelos por loco (A), heterozigosidade esperada ou diversidade gênica (He), heterozigosidade observada (Ho) e índice de fixação (f). Os locos polimórficos encontrados neste estudo serão utilizados no Projeto Efeito dos Impactos Antrópicos da Diversidade Genética de Populações de Cagaita (*Eugenia dysenterica* Dc.).

Apoio: Embrapa e Funbio.

---

<sup>1</sup> Engenharia Florestal, graduação, UFSCAR, Sorocaba, SP

<sup>2</sup> Ecologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Botânica, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## REGENERAÇÃO DE CALOS EMBRIOGÊNICOS DAS CULTIVARES MOMBAÇA E TANZÂNIA de *Panicum maximum*

Amorim, P.S.P.<sup>1</sup>; Cabral, G.B.<sup>2</sup>; Jank, L.<sup>3</sup>; Carneiro, V.T.C.<sup>2</sup>; Dusi, D.M.A.<sup>2</sup>

A embriogênese somática pode ser descrita como uma via morfogênica na qual embriões somáticos são induzidos em meio de cultura contendo reguladores de crescimento, e têm potencial para formar uma plântula inteira. O sucesso deste processo depende, dentre outros fatores, da idade do explante, tipo e concentração de regulador de crescimento utilizado e a manutenção do meio de indução. Inicialmente, a desinfestação do explante tem como finalidade eliminar as bactérias, fungos e leveduras presentes na superfície dos explantes, possibilitando a introdução e manutenção dos mesmos *in vitro*. *Panicum maximum* é uma forrageira de importância agrônômica cultivada no Brasil. Técnicas de biotecnologia podem ser úteis ao melhoramento genético da espécie. Desta forma, o objetivo deste trabalho é desenvolver uma metodologia de regeneração de plantas via embriogênese somática de *P. maximum*. Sementes maduras de Tanzânia e Mombaça foram desinfestadas utilizando o gás cloro obtido da mistura de 100 mL de hipoclorito de sódio 6% e 4 mL de ácido clorídrico por períodos de 16 h ou 48 h. Após a desinfestação, as sementes foram inoculadas em meio de cultura M1.3, suplementado com 2,4-D 3 mg/L, BAP 0,2 mg/L, ágar 1,4 % e pH 4,2, e foram cultivadas no escuro a 25 ± 1°C por 30 dias. Após este período, a repicagem dos calos para novo meio M1.3 ocorreu em períodos de aproximadamente 30 dias. Os calos obtidos foram transferidos para o meio MSCLreg suplementado com cinetina 2,5 mg/L, BAP 1 mg/L e ANA 0,5 mg/L, e cultivados a 25 ± 1°C com fotoperíodo de 16 horas luz/ 8 h escuro por 30 dias. Testes anteriores de desinfestação com ácido sulfúrico 1N, 37%, nitrogênio líquido e PPM 0,2%, não foram eficientes, tendo ocorrido proliferação de bactérias, fungos e leveduras. Neste trabalho, a utilização do gás de cloro, liberado pela dissociação iônica dos compostos Hipoclorito de Sódio e HCL no período de 16h foi eficiente para eliminar os microrganismos e conter as contaminações permitindo que ocorresse em cultura a desdiferenciação celular das células meristemáticas e formação de calos aquosos, friáveis e embriogênicos. No período de 48 h não houve contaminação alguma, mas as sementes não formaram calos, podendo ter ocorrido um efeito deletério do gás, que provavelmente matou os embriões. A repicagem de calos friáveis e embriogênicos no meio M1.3 permitiu a multiplicação dos calos. O número de plântulas regeneradas a partir dos calos embriogênicos em meio MSCLreg foi obtida na primeira semana para a cultivar Mombaça (12,07%) e na segunda semana para a cultivar Tanzânia (6,41%). Plântulas obtidas da regeneração estão em meio MMP e serão transferidas para casa de vegetação para observação de variações fenotípicas.

Apoio: Embrapa e CNPq/UniCEUB.

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup> Biologia Molecular e Celular Vegetal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Agronomia, Ph.D., Embrapa Gado de Corte

## REVISÃO DO NÚMERO CROMOSSÔMICO DE ESPÉCIES DE *Paspalum* L. CONSERVADAS NO BANCO DE GERMOPLASMA DA EMBRAPA

Paiva, D.S.<sup>1</sup>; Santos, S.<sup>2</sup>; Fávero, A.P.<sup>3</sup>; Pozzobon, M.T.<sup>4</sup>

Espécies de *Paspalum* L. estão distribuídas nas Américas, sendo abundantes no cerrado brasileiro. Sua importância se deve ao seu valor ecológico, forrageiro e ornamental. Muitas espécies consistem de citótipos diplóides sexuais e tetraplóides apomíticos e, vários tem surgido por meio de hibridações. O Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de *Paspalum* localizado na Embrapa Pecuária Sudeste tem a finalidade de conservar, introduzir, documentar, multiplicar, caracterizar e valorar acessos de germoplasma de diferentes espécies do gênero, visando o melhoramento genético e a biotecnologia. A caracterização citogenética, incluindo a determinação correta do número cromossômico e análise do comportamento meiótico é primordial para esclarecer o modo de reprodução, facilitando a conservação e otimização da representatividade na coleção. Assim, o objetivo deste trabalho foi revisar o número cromossômico de acessos disponíveis no BAG. Sementes de 20 acessos foram germinadas em substrato e 14 plântulas transplantadas para vasos e mantidas em telado na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, para posterior coleta de pontas de raízes e inflorescências. Também foram analisadas inflorescências de 39 acessos coletadas diretamente do BAG e de duas plantas obtidas de mudas. O preparo do material para a análise seguiu protocolos usuais de fixação e coloração. Os números cromossômicos obtidos para 23 acessos variaram entre  $2n=20$  e  $2n=60$ , sendo  $2n=40$  para a maioria. A baixa germinação das sementes, dificuldade na manutenção das plântulas e inflorescências em estágio avançado de maturação não permitiram a contagem para alguns acessos. Foi confirmado o número cromossômico para espécies, estudadas, assim como a identificação de contaminação para um acesso. Os resultados mostram a importância da análise citogenética para a identificação correta das espécies, conhecimento do modo de reprodução, além de contribuir na definição de estratégias de multiplicação e de sua regeneração.

Apoio: Embrapa e CNPq (PIBIC).

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Faculdade Anhanguera de Brasília-FAB

<sup>2</sup> Assistente, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Genética e Melhoramento de Plantas, D.Sc., Embrapa Pecuária Sudeste

<sup>4</sup> Fitotecnia, D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **SUPEREXPRESSÃO DE GENES DE ALGODÃO POTENCIALMENTE ENVOLVIDOS NA RESISTÊNCIA A *Meloidogyne incognita* EM PLANTA MODELO**

Santos, C.<sup>1</sup>; Labuto, L.B.D.<sup>2</sup>; Carmo, L.S.T.<sup>3</sup>; Carneiro, R.M.D.G.<sup>4</sup>; Grossi-de-Sá, M.F.<sup>5</sup>; Mehta, A.<sup>5</sup>

O algodão (*Gossypium hirsutum* L.) é uma das culturas mais tradicionais do Brasil e pode ser afetada por pragas como o nematóide *Meloidogyne incognita*. Estudos preliminares mostraram que os genes que codificam as proteínas superóxido dismutase (SOD), dirigent-like (DIR) e peroxiredoxina (PEROX) são diferencialmente expressos em raízes de algodão resistente ao nematóide em comparação com o algodão suscetível. O objetivo deste trabalho foi transformar a planta modelo *Arabidopsis thaliana*, suscetível ao nematóide *M. incognita*, para validar o envolvimento destes genes na resistência ao parasita. Para isso, esses genes foram clonados e introduzidos em *Agrobacterium tumefaciens*, linhagem EHA 105 utilizando o sistema Gateway<sup>®</sup> (Invitrogen) de clonagem. Plantas de *A. thaliana* foram transformadas com *A. tumefaciens* pela técnica de 'Floral Dip'. Sementes das plantas transformadas foram colhidas, esterilizadas e semeadas inicialmente em meio seletivo para germinação. As plântulas que se desenvolveram foram transferidas para o substrato e utilizadas para confirmação da transformação por PCR. Foram obtidas linhagens de plantas homozigotas superexpressando os genes de interesse. Logo, o bioensaio com plantas de *A. thaliana* infectadas com nematóides no ciclo de vida J2, fase infectiva, irá confirmar o envolvimento destes genes na resistência à *M. incognita*.

Apoio: Capes, Embrapa e CNPq.

---

<sup>1</sup> Farmácia, doutorado, Universidade Federal de Juiz de Fora-UFJF

<sup>2</sup> Biologia, Universidade Paulista-UNIP

<sup>3</sup> Biologia molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genético e Biotecnologia

<sup>4</sup> Nematologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genético e Biotecnologia

<sup>5</sup> Biologia Molecular, Ph.D, Embrapa Recursos Genético e Biotecnologia



## **SUPEREXPRESSÃO DO GENE LEA DE *Arachis duranensis* EM PLANTAS TRANSGÊNICAS DE *Arabidopsis thaliana***

Oliveira, T.N.<sup>1</sup>; Williams, C.C.V.<sup>2</sup>; Williams, T.C.R.<sup>3</sup>; Araujo, A.C.G.<sup>4</sup>; Guimarães, P.M.<sup>5</sup>; Brasileiro, A.C.M.<sup>5</sup>

As plantas cultivadas são expostas continuamente a estresses ambientais, simultâneos e múltiplos, que podem afetar sua produtividade. Por outro lado, espécies silvestres adquiriram ao longo de sua evolução resistência/tolerância a diversos tipos de estresses e têm sido exploradas como uma valiosa fonte de novos alelos em programas de melhoramento genético. *Arachis duranensis*, um dos progenitores silvestres do amendoim cultivado (*A. hypogaea*), mostra boa adaptação a condições de seca e seu transcriptoma foi analisado visando a identificação de genes candidatos envolvidos na resposta ao déficit hídrico. Entre eles, o gene que codifica uma proteína LEA (*Late Embryogenesis Abundant*) mostrou níveis altos de regulação positiva em resposta à perda gradual de água no solo. Proteínas LEA comportam-se como chaperonas e são encontradas em abundância em tecidos sob dessecação. Portanto, para compreender melhor o papel dessa proteína na resposta ao déficit hídrico, o objetivo deste estudo foi caracterizar, isolar e superexpressar o gene LEA de *A. duranensis* (*AdLEA*) em plantas transgênicas de *Arabidopsis thaliana*. Para tanto, a ORF de *AdLEA* foi clonada no vetor de expressão pPZP-201BK\_EGFP, introduzida em plantas de *A. thaliana* via *Agrobacterium* pelo método de imersão floral. Quinze eventos transgênicos em homozigose (geração T3) foram obtidos e os níveis de transcritos de *AdLEA* nesses eventos analisados por RT-qPCR. Para testar o papel de *AdLEA* na tolerância a estresses abióticos, plantas transgênicas foram germinadas em placas de meio MS contendo diferentes concentrações de NaCl e manitol, ou submetidas a temperaturas extremas de calor e frio. Para o ensaio de tolerância à seca, a rega de plantas transgênicas com 3 semanas foi interrompida e análises fenotípicas foram feitas depois de 17 dias sem água. Para a maioria dos quinze eventos transgênicos foi observado atraso no aparecimento dos sintomas, com fenótipo melhor adaptado aos diferentes estresses, quando comparadas às plantas não-transgênicas, sugerindo o potencial envolvimento de *AdLEA* na proteção a estresses abióticos.

Apoio: Embrapa e Capes.

---

<sup>1</sup> Agronomia, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Vegetal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Biologia Vegetal, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Biologia Molecular e Celular Vegetal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **TÉCNICAS DE DIVERSIFICAÇÃO DA VEGETAÇÃO AUMENTAM A DIVERSIDADE DE INIMIGOS NATURAIS NA PAISAGEM AGRÍCOLA?**

Fagundes, M.R.M.<sup>1</sup>; Santos, J.P.C.R.<sup>2</sup>; Harterreiten-Souza, E.S.<sup>3</sup>; Souza, L.M.<sup>4</sup>; Pires, C.S.S.<sup>5</sup>; Sujii, E.R.<sup>5</sup>

Práticas de manejo que contribuem para o aumento da diversificação da vegetação em sistemas agroecológicos podem favorecer o controle biológico de insetos-praga através do aumento de seus inimigos naturais. Entretanto, informações do papel de plantas utilizadas como barreiras vegetadas, medicinais (utilizadas em policultivos) ou de crescimento espontâneo (mantidas para cobertura do solo) na conservação da entomofauna local são escassas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência destas plantas na composição e diversidade funcional de inimigos naturais de espécies herbívoras. Os insetos foram coletados diretamente sobre as plantas usadas com funções diversas nos agroecossistemas em três propriedades de produção orgânica: (a) barreira vegetada (margaridão), (b) medicinal (erva-doce, erva-cidreira, mil folhas e hortelã) e (c) plantas de crescimento espontâneo para cobertura do solo entre as linhas de hortaliças (picão e mentrasto). O uso de diferentes estratégias de diversificação de habitat alterou a composição de espécies de forma complementar e aumentou a diversidade funcional de inimigos naturais de interesse no controle biológico de insetos-praga. Destacamos a importância da diversificação planejada de plantas de forma a favorecer determinados grupos funcionais nos agroecossistemas, baseado em informações dos mecanismos ecológicos pelos quais os inimigos naturais são seletivamente favorecidos. Além disso, o aumento no número de grupos funcionais através de espécies com complementaridade ecológica incrementa o controle biológico natural de pragas. De forma geral, a utilização das plantas utilizadas nesse trabalho na diversificação do ambiente contribuiu com famílias de inimigos naturais que podem apresentar diferentes preferências e hábitos alimentares em relação às suas presas ou hospedeiros principais, o que sugere um aumento na diversidade funcional da paisagem agrícola com incremento no serviço do controle biológico de pragas.

Apoio: Embrapa e CNPq.

---

<sup>1</sup> Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

<sup>3</sup> Ecologia, doutorado, , Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Entomologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## TRANSFORMAÇÃO DE *Arabidopsis thaliana* COM PROMOTORES ISOLADOS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) E SOJA (*Glycine max* L.)

Quintanilha, M.V.T.<sup>1</sup>; Braga, H.C.A.<sup>2</sup>; Ribeiro, R.M.<sup>2</sup>; Barros, L.M.G.<sup>3</sup>; Falcão, L.L.<sup>4</sup>; Marcellino, L.H.<sup>3</sup>; Almeida, J.D.<sup>5</sup>; Silva-Werneck, J.O.<sup>3</sup>

A transformação genética de plantas é uma ferramenta utilizada para se obter a expressão de características desejáveis, como resistência a pragas e doenças e tolerância à seca, em plantas GM ou transgênicas. Promotores são fundamentais na regulação da expressão de genes de forma constitutiva, tecido-específica, temporal ou em resposta a determinada condição. O objetivo deste trabalho foi transformar *Arabidopsis thaliana* com construções contendo promotores isolados de café (*Coffea arabica* L.) e soja (*Glycine max* L.) a fim de avaliar seu desempenho. Vetores binários próprios de *Agrobacterium tumefaciens* foram construídos para transformar *Arabidopsis*, contendo os seguintes promotores à montante do gene repórter *gus* ( $\beta$ -glucuronidase): P2 - semente-específico de cafeeiro, P3 - constitutivo de soja e P4 - folha-preferencial de soja, além de um vetor vazio, sem promotor, como controle. Células de *A. tumefaciens* GV3101 foram transformadas, por eletroporação, com os vetores purificados e os clones foram avaliados por PCR com *primers* específicos para o gene *gus*. Flores de *A. thaliana* foram transformadas com os quatro vetores, via *A. tumefaciens*, pelo método de “floral dip” e as plantas cultivadas a 22°C e fotoperíodo de 12h. As sementes das plantas transformadas com o promotor P3 e com o vetor vazio foram colhidas (progênie F1) e estão sendo selecionadas em meio contendo canamicina. As plantas resistentes obtidas até o momento foram analisadas quanto à expressão do gene *gus*.

Apoio: Embrapa e CNPq (PIBIC).

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>3</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Produção Vegetal, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Genética e Melhoramento de Plantas, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE TOMATEIRO (CV SANTA CLARA) PARA A OBTENÇÃO DE PLANTAS COM TOLERÂNCIA AO HERBICIDA CONTAIN®

Ferreira, P.<sup>1</sup>; Lacorte, C.<sup>2</sup>

O tomate (*Solanum lycopersicum*) é uma das hortaliças de maior importância cultivadas no Brasil. O tomateiro é suscetível a diversas pragas e doenças, o que aumenta o custo de produção. Recentemente, crescente escassez de mão de obra nas áreas produtoras também tem elevado estes custos. Uma alternativa, utilizando-se uma abordagem biotecnológica, seria a obtenção de plantas com tolerância ao herbicida Contain®, cujo princípio ativo é o imazapir. Desta forma, o gene *ahas* mutado, que confere resistência ao herbicida imazapir, foi clonado ao vetor pCambia2300, no sítio de restrição Sall. Após caracterização molecular em *Escherichia coli*, o vetor pCambia 2300-ahas foi transformado em *Agrobacterium tumefaciens* (EHA105) por eletroporação. Sementes da variedade Santa Clara foram germinadas e explantes de cotilédones inoculados com *A. tumefaciens*. Os explantes foram colocados em meio de cocultura (meio MS com 0,2 mg/L de 2,4-D), por dois dias. Após este período os explantes foram transferidos para meio de seleção contendo hormônio de crescimento Zeatina (1 mg/L), o antibiótico Tioxin (ticarcilina disódica/clavulanato de potássio - 300 mg/L), e um agente de seleção (100 mg/L de canamicina) e cultivados em câmara de crescimento com fotoperíodo de 16 horas. Com o aparecimento de calos e brotos, estes foram transferidos para meio de cultura sem reguladores de crescimento, para enraizamento e, a seguir, para aclimação em casa de vegetação. As plantas foram analisadas por PCR utilizando *primers* específicos dos genes *nptII* e *ahas*. Plantas potencialmente transformadas (PCR-positivas) foram cultivadas para produção de sementes e posterior análise da progênie e teste da tolerância ao herbicida Contain®.

Apoio: Embrapa e CNPq(PIBIC).

---

<sup>1</sup> Agronomia, graduação, Universidade Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biotecnologia e Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **VALIDAÇÃO DE GENES CANDIDATOS À RESISTÊNCIA A *Meloidogyne arenaria* EM AMENDOIM UTILIZANDO UM SISTEMA DE TRANSFORMAÇÃO MEDIADA POR *Agrobacterium rhizogenes***

Pereira, B.M.<sup>1</sup>; Canales, H.P.R.<sup>2</sup>; Guimarães, L.A.<sup>3</sup>; Araujo, A.C.G.<sup>4</sup>; Brasileiro, A.C.M.<sup>3</sup>; Guimarães, P.M.<sup>3</sup>

O amendoim cultivado (*Arachis hypogaea* L.) possui alta qualidade nutricional, sendo caracterizado como uma rica fonte de energia e aminoácidos, se tornando um alimento importante principalmente para populações de baixa renda na África e na Ásia. Sua produtividade é limitada por vários fatores, dentre eles a suscetibilidade ao nematóide das galhas (*Meloidogyne arenaria*). Em contrapartida, os parentes silvestres do amendoim apresentam uma grande variabilidade genética, sendo uma fonte potencial de alelos de resistência em programas de melhoramento. A espécie silvestre *A. stenosperma*, por exemplo, mostra elevados níveis de resistência a *M. arenaria* e demais fitopatógenos. Para explorar essa variabilidade, o transcrito dessa espécie foi analisado para identificar genes diferencialmente expressos em raízes de *A. stenosperma* inoculadas com *M. arenaria* em relação ao controle não inoculado. Diversos genes candidatos foram selecionados e sua expressão diferencial foi posteriormente validada por RT-qPCR. O objetivo deste estudo foi melhor compreender o papel biológico de dois genes candidatos (*As1* e *As2*) para resistência a *M. arenaria* por meio de sua superexpressão em raízes transgênicas de amendoim. Para isso, as ORFs desses genes foram clonadas no vetor binário pPZP-201BK-EGFP sob o controle do promotor de actina e introduzidos no pecíolo de folhas de amendoim por meio da transformação com *Agrobacterium rhizogenes*. Para cada gene, 50 pecíolos foram transformados e raízes transgênicas assim obtidas (*hairy root*) posteriormente inoculadas com 1.000 *M. arenaria* no estágio de desenvolvimento juvenil 2. Após 15 dias de inoculação, as raízes inoculadas foram coradas com fucsina ácida para detectar a presença de nematóides. Raízes superexpressando os dois genes candidatos mostraram um atraso no desenvolvimento dos nematóides, em comparação com o controle (vetor vazio). A caracterização dos genes *As1* e *As2* e sua análise funcional *in planta* permitirá uma melhor compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na resposta de hipersensibilidade a *M. arenaria* em *A. stenosperma*.

---

<sup>1</sup> Agronomia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biologia Molecular e Celular Vegetal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## VALIDAÇÃO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES EM *Musa* sp., PARA POTENCIAIS GENES DE RESISTÊNCIA E DEFESA À SIGATOKA NEGRA E AMARELA

Dias, M.A.<sup>1</sup>; Miller, R.N.G.<sup>2</sup>; Azevedo, V.C.R.<sup>3</sup>

O cultivo da cultura de banana no Brasil tem aumentado muito nos últimos anos, sendo um dos maiores produtores mundiais da fruta. Genes de resistência (R) em plantas codificam receptores de proteínas que reconhecem assinaturas moleculares de efetores de patógenos, desencadeando mecanismos de defesa como a imunidade disparada por efetores (ETI). Essa resistência pode ser perdida durante a co-evolução do hospedeiro e patógeno, favorecendo a evolução das novas raças patogênicas. O desenvolvimento contínuo de cultivares de plantas resistentes é necessário para o acompanhamento da evolução de patógenos e garantia de uma produção satisfatória. Com o objetivo de identificar marcadores polimórficos associados à genes de resistência e defesa à Sigatoka Negra e Amarela na banana (*Musa* sp.), foram desenhados 39 pares de *primers* para regiões microsatélites próximas a genes de NB-ARC. Foi montado um *ranking* com os microsatélites distando até no máximo 10.000 pb dos genes de interesse. Estão sendo analisados 20 indivíduos de banana. Inicialmente, o DNA desses indivíduos foi quantificado e diluído para as análises. Foi feita uma otimização de temperatura para cada par de *primer* por meio de PCRs (reação em cadeia da polimerase) em gradientes de temperatura (52°C a 62°C), em termociclador Veriti (Life Technologies). Os produtos dessas reações foram analisados em gel de agarose 3% para determinação da eficiência de amplificação. Após esta etapa, os marcadores estão sendo validados com base em 20 indivíduos, organizados em quatro *bulks*, de acordo com sua resistência ou suscetibilidade à Sigatoka Negra e Amarela, em géis de poliacrilamida 5% para detecção de polimorfismo. Com essas análises é possível verificar quais *bulks* são polimórficos e quais são monomórficos. Quando é detectado polimorfismo entre os bulks ou dentro do bulk (mais de duas bandas), eles são abertos e os 20 indivíduos são analisados separadamente, possibilitando verificar polimorfismos entre eles. Até o momento, foram identificados seis locos monomórficos e três polimórficos.

Apoio: Embrapa e CNPq.

---

<sup>1</sup> Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Molecular, Ph.D., University of Reading/Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **VARIABILIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Caryocar brasiliense* CAMB. E *Dipteryx alata* VOG. EM DIFERENTES CONTEXTOS DE USO DA TERRA: IMPACTOS E PRIORIDADES PARA CONSERVAÇÃO**

Barreto, F.A.T.<sup>1</sup>; Aragão, N.B.R.<sup>2</sup>; Scariot, A.O.<sup>3</sup>; Azevedo, V.C.R.<sup>4</sup>

Vem sendo desenvolvido, desde 2013, o subprojeto intitulado “Variabilidade e estrutura genética de populações de *Caryocar brasiliense* Camb. e *Dipteryx alata* Vog. em diferentes contextos de uso da terra: impactos e prioridades para conservação”, o qual está inserido dentro do Macroprojeto “Manejo de Plantas do Cerrado: Subsídios Técnicos às Políticas Públicas de Uso Sustentável e Conservação da Biodiversidade”. Visando analisar o estado de conservação genético e possíveis impactos associados ao uso da terra em populações de Pequi (*C. brasiliense*) e Baru (*D. alata*), foram realizadas sete expedições para a amostragem de 40 populações e coleta de material para a análise laboratorial. Foram amostradas 20 populações de Pequi e 20 de Baru, todas situadas nas mesorregiões do Leste de Goiás, Noroeste e Norte de Minas Gerais. Estas populações foram previamente estudadas e então selecionadas em função de apresentarem diferentes históricos de uso da terra. Em cada população foram coletados no mínimo 30 indivíduos adultos, com DAP (diâmetro a altura do peito) superior a 10 cm, e de maneira aleatória espacialmente. De cada indivíduo amostrado, foram coletadas folhas jovens e frescas, as quais foram encaminhadas ao Laboratório de Genética Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, onde foram realizados os procedimentos laboratoriais. Utilizando *primers* previamente desenvolvidos, fragmentos microssatélites foram amplificados e então genotipados a partir do ABI 3730. Esta etapa foi concluída para 14 *primers* para *D. alata* e 9 *primers* para *C. brasiliense*, de um total de 16 e 10, respectivamente. A finalização da fase de coleta de dados está prevista para dezembro de 2015.

Apoio: Embrapa, CNPq e Funbio.

---

<sup>1</sup> Biomedicina, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup> Ecologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Botânica, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## ÍNDICE DE AUTORES

Albuquerque, M.S.M. ....	31
Alcantara, G.L. ....	64
Almeida, J.D. ....	115
Almeida, M.R.A. ....	84, 93
Almeida, Z. ....	81, 90
Almeida, Z.G. ....	72
Alves-Freitas, D.M.T. ....	68, 70, 71, 88
Amorim, P.S.P. ....	110
Antunes, R.C. ....	50
Aquino, M.F.S. ....	38, 40
Aragão, N.B.R. ....	119
Araujo, A.C.G. ....	103, 105, 113, 117
Araújo, F. ....	39
Araujo, S.K. ....	63, 65
Azevedo, H.C. ....	34
Azevedo, V.C.R. ....	99, 106, 109, 118, 119
Barbosa, A.V. ....	23
Barreto, F.A.T. ....	119
Barros, A.M.R. ....	64
Barros, L.C. ....	101
Barros, L.M.G. ....	115
Bayão, H. ....	46
Benito, N.P. ....	27, 39, 101
Bernardes, F.G. ....	87
Bertioli, D.J. ....	103
Biazio, G.R. ....	31
Birkett, M.A. ....	36
Blassioli-Moraes, M.C. ....	25, 28, 36, 37, 38, 40, 41, 42
Blum, L.E.B. ....	75, 92
Borges, M. ....	25, 28, 36, 37, 38, 40, 41, 42
Borges, N.A. ....	46
Braga, H.C.A. ....	115
Braga, T.F. ....	53
Brasil, O.O. ....	33, 34
Brasileiro, A.C.M. ....	103, 105, 113, 117
Bravo, A. ....	43
Bresso, E. ....	104
Buso, G.S.C. ....	95, 96, 97
Cabral, G.B. ....	110
Caetano, A.R. ....	22, 48, 50
Caixeta, C.F. ....	81
Campos, M.A. ....	74
Canales, H.P.R. ....	117
Canela, F.M. ....	95, 96, 97
Cares, J.E. ....	84
Carmo, L.S.T. ....	98, 105, 112
Carneiro, R.M.D.G. ....	75, 83, 84, 92, 93, 112



Carneiro, V.T.C. ....	110
Carvalho, N. ....	95, 96, 97
Carvalho Neto, J.O.....	47, 49, 51, 54, 56
Castagnone-Sereno, P.....	93
Castro, C.S.P.....	73
Castro, M.E.B.....	63, 65, 67, 76
Castro, M.T.....	24, 69, 75, 92
Castro, S.T.R.....	31
Castro, T.M.M.G.....	44
Cavalcante, R.S.....	73
Cavallin, E.K.S. ....	79, 81, 89
Cavallari, M.M. ....	99, 106
Chaves, L.C.S.....	67
Costa, F.S.S.....	91
Costa, L.C.....	74
Craveiro, S.R.....	63, 65, 67, 76
Cunha, A.T.M.....	47, 51
Damaceno, N.B.....	81, 89, 90
Dias, A. ....	37
Dias, M.A. ....	118
Diógenes, M.N.....	55, 59
Dode, M.A.N.....	47, 48, 49, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 60, 61
Dores, E.R. ....	101
Dufort, I.....	53
Dusi, D.M.A. ....	110
Eckstein, B.....	43, 79, 81, 86, 87, 89, 90
Fagundes, M.R.M. ....	114
Falcão, L.L. ....	115
Faria, J.C.....	68, 70, 88
Fávero, A.P. ....	111
Ferragut, F.....	39
Ferreira, B.C.....	89
Ferreira, F.R.....	101
Ferreira, M.A. ....	95, 96, 97
Ferreira, P. ....	116
Ferreira, P.D.S.....	78
Figueiredo, C.C. ....	100
Figueiredo, R.A.....	58
Fonseca, A. ....	103
Fontenele, R.S.....	74, 85
Francisconi, A.F. ....	109
Franco, M.M.....	46, 48, 50, 53, 56, 57, 59, 61
Freitas, D.S.....	42
Frizzo, T.L.M.....	29
Furnaletto, C.....	83
Georgen, L.M.....	81
Giband, M.....	83
Gimenes, N.C.....	68
Goergen, L.M.....	89, 90
Gomes, A.C.M.M.....	63, 65, 84, 91

Gomes, E.M.C.....	22
Gomes, S.M. ....	99
Gomez, G.M.....	83
Gómez, I.....	43
Gondin Jr, M.G.C.....	44
Gonzaga, V.....	77
Grisi, I. ....	43
Grossi-de-Sá, M.F. ....	112
Grynberg, P.....	67, 76, 104
Guimarães, A.L.S.....	48, 54, 55, 58, 60, 61
Guimarães, L.A. ....	117
Guimarães, P.M.....	103, 105, 113, 117
Harterreiten-Souza, E.S. ....	107, 114
Hassemer, M.J.....	28
Holanda, R.A.....	87
Inglis, P.W.....	67, 76, 106
Jank, L. ....	110
Joanitti, G.A. ....	108
Kussano, N.R.....	61
Labuto, L.B.D. ....	112
Lacorte, C.....	68, 116
Laia, M.....	37
Lamas, N.S.....	71, 74, 85
Lanella, P.....	34
Laumann, R.A.....	25, 28, 30, 36, 37, 38, 40, 41, 42
Leal-Bertioli, S. ....	103
Leite, P.H.S. ....	95, 96
Leme, L.O.....	49, 52, 53, 54, 55, 56, 59, 60, 61
Lima, L.S.....	80
Lopes-da-Silva, M.....	23
Macedo, C.L.....	43, 90
Magalhães, D.M. ....	36
Magarelli, G.....	73
Maigret, B. ....	104
Marcellino, L.H. ....	115
Martins, A.C.Q. ....	105
Martins, C.C.C. ....	105
Martins, E.S.....	43, 72, 81, 87, 89, 90
Martins, I.....	66
Martins, M.S. ....	102
Martins, N.F. ....	104
Mata, L.R. ....	99, 106
Matos, V.O.R.L.....	70, 71
Mattos, F.L.F.....	80
Mattos, I.K.S.....	25
Mattos, V.S.....	93
Mehta, A. ....	98, 105, 112
Mello, S.C.M.....	66, 82
Melo, C.L.....	26
Melo, F.L.....	68, 88

Mendes, M.A.S.....	80
Mendes, N.M.....	66
Mendonça, A.S.....	46, 48, 50
Mendonça, J.S.....	86
Mendonça, R.S.....	44, 77
Meneguim, A.N. ....	41
Menezes, J.E.....	66
Miller, R.N.G. ....	118
Monnerat, L.G.....	79
Monnerat, R.G.....	24, 69, 72, 75, 79, 81, 86, 87, 89, 90, 91, 92
Montalvão, S.C.L.....	24, 69, 75, 86, 92
Monteiro, J.M.S.....	84
Monteiro, S.S.....	33
Moraes, S.V.....	79
Moraes, G.J.....	44
Moraes, S.D.M. ....	49
Moreira, N.H. ....	33, 34
Moretzsohn, M.C. ....	83, 99, 106
Nascimento, E.F.M.B. ....	103
Nascimento, F.B.....	80
Navia, D.....,	39, 44
Oliveira, D.C.....	44
Oliveira, M.W.M.....	25, 28, 42
Oliveira, T.N. ....	113
Oliveira, V.R.....	97
Oliveira Neto, O.B. ....	98
Ombredane, A.S. ....	108
Paiva, D.S. ....	111
Paiva, S.R.....	22
Pareja, M.F.....	37
Paula, A.R.....	82
Peixoto, J.R.....	93
Pereira, B.M. ....	117
Pickett, J.A.....	36
Pires, C.S.S.....	26, 30, 35, 100, 107, 114
Pivato, I.....	52, 54, 60
Polez, V.L.P.....	73, 108
Pozzobon, M.T.....	111
Praça, L.B.....	43, 81, 91
Pujol-Luz, J.R. ....	107
Queiroz, P.R.....	43, 87
Quintanilha, M.V.T. ....	115
Ramos, A.F.....	32, 33, 34, 49, 59
Reifschneider, F.B. ....	95
Reis, E.C.....	31
Ribeiro, B.M.....	67
Ribeiro, D.G. ....	98
Ribeiro, G.C.....	70, 85
Ribeiro, J.P.C.S.....	26
Ribeiro, R.M. ....	115

Ribeiro, S.G.....	68, 70, 71, 74, 85, 88
Ribeiro, Z.M.A.....	63, 65, 67, 76
Rocha, T.L.....	78
Rodrigues, L.S.....	77
Rodrigues, R.C.R.....	87
Rodrigues, S.A.D.....	57, 58
Rosa, N.D.....	44
Rumpf, R.....	46
Saavedra, C.A.P.B.....	22, 34
Sanches, M.M.....	64, 74
Sant'Ana, J.....	28
Santos, C. ....	112
Santos, C.D.G.....	84
Santos, H.M. ....	43
Santos, I.R. ....	98
Santos, J.B.F.....	50
Santos, J.P.C.R. ....	35, 114
Santos, L.A.V.M.....	63, 65, 76
Santos, M.D.M.....	77
Santos, M.F.....	97
Santos, M.F.A.....	93
Santos, R.....	32
Santos, S. ....	111
Saraiva, J.....	79, 81
Scaliante-Junior, J.R.....	57, 58
Scarabuci, L.T.....	81
Scariot, A.O. ....	109, 119
Sena-Netto, S.B.....	52, 60
Sihler, W.....	64
Silva, B.D.M.....	49, 57
Silva, D.B.....	96
Silva, E.....	83
Silva, J.B.T.....	66, 82
Silva, J.G.P.....	83
Silva, J.P. ....	22, 34
Silva, L.P. ....	49, 98, 105, 108
Silva, M.C.L.....	84
Silva, N.M.A.....	48, 50
Silva, P.C.P. ....	34, 59
Silva, R.A. M. ....	39
Silva, T.C.F.....	50
Silva-Werneck, J.O. ....	115
Silveira, M.M.....	46
Silveiro, B.C.....	78
Simões, L.M.S.....	52, 60
Sirard, M.A.....	53
Soares, C.M.S.....	43, 63, 65, 75, 90, 91, 92
Soberon, M. ....	43
Sousa, A.A.T.C.....	26, 100
Sousa, V.S.....	38

Souza, L.M. ....	26, 100, 107, 114
Souza, M.L.....	64
Souza, N.O.S.....	97
Sprícigo, J.F.W.....	49, 52, 53, 54, 59, 60
Sujii, E.R.....	26, 29, 30, 35, 38, 40, 100, 107, 114
Tagliari, M.....	67
Teixeira, A.B.S.....	50
Teixeira, H.C.A.....	32
Togawa, R.C.....	67, 76, 104
Togni, P.H.B. ....	35
Tomazette, M.R.....	79, 81, 89
Torezani, K.R.S.....	30
Tortorella, R.D.....	32
Trevisan, O. ....	39
Urban, A.F.....	73, 80
Vasconcelos, P.B. ....	109
Viana, J.P.C.....	23, 27
Viana, M.C.....	23, 27
Vicentino, G.C.....	90
Vidigal, B.S. ....	103
Vieira, R.F. ....	96
Walter, B.M.T.....	102
Williams, C.C.V. ....	113
Williams, T.C.R. ....	113
Woodcock, C.M.....	36
Zacarias, T.A.....	58

## **ÍNDICE DE ORIENTADORES**

Alexandre Floriani Ramos.....	32, 33, 34
Ana Cláudia Guerra Araújo.....	103
Ana Cristina M. Brasileiro .....	113, 117
Angela Mehta .....	98, 112
Bianca Damiani Marques Silva .....	57
Bruno Machado Teles Walter.....	102
Carmen Sílvia Soares Pires .....	30
Cícero Célio de Figueiredo .....	100
Clarissa Silva Pires de Castro.....	73
Cristiano Lacorte.....	68, 116
Denise Navia .....	39, 44
Diva Maria de Alencar Dusi.....	110
Edison Ryoiti Sujii .....	26,29, 35, 40, 100, 107, 114
Francisco Ricardo Ferreira .....	101
Glaucia Salles Cortopassi Buso .....	95, 96, 97
João Batista Tavares Silva.....	66
Joseane Padilha da Silva.....	22
Joseílde Oliveira Silva Werneck.....	115
Luís Eduardo Bassay Blum.....	75, 92
Marcelo Lopes da Silva.....	23
Margot Alves Nunes Dode .....	47, 49, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 59, 60, 61
Maria Carolina Blassioli Moraes.....	28, 42
Maria Elita Batista de Castro.....	63, 65, 67, 76
Marisa Toniolo Pozzobon .....	111
Marlinda Lobo de Souza .....	64
Marta Aguiar Sabo Mendes .....	80
Maurício Machaim Franco .....	46, 48, 50
Miguel Borges.....	36, 41
Natalia Florêncio Martins .....	104
Norton Polo Benito.....	27
Patrícia Messenberg Guimarães.....	105
Raúl Alberto Laumann .....	25, 37, 38
Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro.....	83, 84, 93
Renata Santos Mendonça .....	77
Ricardo Alaminio Figueiredo.....	58
Rose Gomes Monnerat.....	24, 43, 69, 72, 75, 79, 81, 86, 87, 89, 90, 91, 92
Silvia Tereza Ribeiro Castro .....	31
Simone da Graça Ribeiro.....	70, 71, 74, 85, 88
Sueli Corrêa Marques de Mello.....	82
Thales Lima Rocha.....	78
Vânia Cristina Renno Azevedo .....	99, 106, 109, 118, 119
Vera Lúcia P. Polez .....	108

## ÍNDICE DE INSTITUIÇÕES

BBSRC-UK – 36  
 Brasmicel – 73  
 Capes – 24, 28, 30, 33, 34, 36, 40, 47, 48, 51, 53, 54, 55, 58, 59, 60, 61, 63, 65, 67, 69, 75, 76, 81, 89, 91, 92, 93, 96, 97, 104, 105, 108, 112, 113  
 Centro Universitário de Brasília – 6, 43, 63, 64, 65, 76, 78, 81, 86, 87, 110, 115, 119, 129  
 Ceplac – 39  
 CNPq – 25, 29, 32, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 46, 47, 49, 51, 54, 56, 60, 64, 65, 67, 70, 72, 73, 74, 75, 76, 79, 81, 82, 83, 84, 85, 87, 88, 89, 90, 92, 98, 100, 102, 103, 105, 107, 108, 110, 111, 112, 113, 115, 116, 118, 119  
 Cogumelos Amazônia – 73  
 Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – 6, 23, 25, 26, 27, 29, 30, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 44, 47, 50, 51, 52, 53, 55, 58, 59, 60, 61, 64, 65, 67, 68, 70, 72, 73, 74, 76, 77, 81, 82, 83, 84, 85, 87, 88, 89, 91, 92, 99, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 115, 116, 118, 119, 129  
     Algodão – 83  
     Arroz e Feijão – 68, 70, 88  
     Café – 6  
     Cerrados – 6, 79  
     Cocais – 99, 106  
     DPD – 6  
     Gado de Corte – 110  
     Hortaliças – 6, 95, 97  
     Pecuária Sudeste – 111  
     Recursos Genéticos e Biotecnologia – 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119  
     Roraima – 44  
     Secretaria de Relações internacionais – 22  
     Tabuleiros Costeiros – 34  
 Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz – 44, 47, 51, 54  
 Federação das Associações dos Empregados da Embrapa – 6, 129  
 Faculdade Anhanguera de Brasília – 23, 27, 31, 44, 80, 111  
 Faculdade da União Educacional do Planalto Central – 33  
 Faculdades Integradas Promove de Brasília – 43, 72, 89  
 Fundação Eliseu Alves – 81, 90  
 FAP-DF – 25, 26, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 40, 41, 49, 54, 56, 65, 67, 70, 74, 76, 85  
 FAPEMIG – 58  
 FUNBIO – 109, 119  
 Geneal – 46  
 IMAmt – 43, 63, 65, 72, 75, 81, 87, 89, 90, 91, 92  
 INCTIPP – 70

INRA-França – 93  
Instituto Agroforestal Mediterraneo, Universitat Politècnica de Valencia, Espanha – 39  
Instituto Agronômico do Paraná – 41  
LORIA-CNRS – 104  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/DSV – 6, 129  
Rede Estece – 70  
União Pioneira de Integração Social-UPIS – 6, 129  
Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca-Morelos – 43  
Universidad Politécnica de Valencia-Espanha – 39  
Universidade Católica de Brasília – 26, 39, 41  
Universidade de Brasília – 6, 22, 24, 25, 28, 29, 30, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 40, 42, 43, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 60, 61, 63, 65, 67, 68, 69, 70, 71, 73, 75, 76, 79, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 102, 103, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119  
Universidade de Campinas (Unicamp) – 37  
Universidade de São Paulo – 49, 56  
Universidade do Distrito Federal – 38, 78  
Universidade Estadual de Maringá – 57, 58  
Universidade Federal de Campina Grande – 74  
Universidade Federal de Goiás – 77  
Universidade Federal de Juiz de Fora – 98, 112  
Universidade Federal de Lavras – 37, 52, 60  
Universidade Federal de São Carlos – 109  
Universidade Federal de Uberlândia – 46, 48, 50, 57, 58, 61, 68  
Universidade Paulista-UNIP – 26, 35, 64, 77, 98, 101, 112, 114  
Universidade Federal do Ceará – 84  
Universidade Federal do Pernambuco – 44  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – 28  
Université Laval, Quebec, Canadá – 53  
University of Reading – 118



## Agradecimentos pelo Apoio ao Evento



Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento

